

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE MARINGÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS LIMPAS

EXPRESSÃO DO ESTRO ASSOCIADO OU NÃO AO GnRH NOS  
PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM  
TEMPO FIXO

DYORGENES MATHAUS PEROSSO MESSIAS

MARINGÁ  
2020

DYORGENES MATHAUS PEROSSO MESSIAS

EXPRESSÃO DO ESTRO ASSOCIADO OU NÃO AO GnRH NOS  
PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM  
TEMPO FIXO

Dissertação apresentado ao Programa de  
Pós-Graduação em Tecnologias Limpas  
do Centro Universitário de Maringá, como  
requisito parcial para obtenção do título de  
Mestre em Tecnologias Limpas.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz Bim  
Cavalieri.

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia  
Aparecida Andreazzi.

MARINGÁ  
2020

M585e    Messias, Dyorgens Mathaus Perosso.

Expressão do Estro associado ou não ao GnRH nos programas de transferência de embriões em tempo fixo / Dyorgenes Mathaus Perosso Messias. – Maringá-PR: UniCesumar, 2020.

36 f. : il. color ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Luiz Bim Cavalieri.

Coorientadora: Prof. Dra. Márcia Aparecida Andreazzi.

Dissertação (mestrado) – UNICESUMAR - Centro Universitário de Maringá, Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas, 2020.

1. Bastão marcador. 2. Biotecnologia da reprodução. 3. Hormônio liberador de gonadotrofina. 4. TETF. I. Título.

CDD – 636.208926

CDD 22.ed

Leila Nascimento – Bibliotecária – CRB 9/1722

Biblioteca Central UniCesumar

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

## **TERMO DE APROVAÇÃO**

**DYORGENES MATHAUS PEROSSO MESSIAS**

### **EXPRESSÃO DO ESTRO ASSOCIADO OU NÃO AO GnRH NOS PROGRAMAS DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM TEMPO FIXO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas do Centro  
Universitário de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em  
Tecnologias Limpas pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

#### **COMISSÃO JULGADORA**

---

Prof. Dr. Fabio Luiz Bim Cavalieri  
Centro Universitário de Maringá (Presidente)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria de Los Angeles Perez Lizama  
Membro interno /UNICESUMAR.

---

Prof. Dr. Fabio Morotti  
Universidade Estadual de Londrina

Aprovado em: 21 de fevereiro de 2020.

À Deus e a Nossa Senhora, minha mãe  
Valquiria, meu irmão Igor, minha Vó  
Jacira e minha tia Vânia, que sempre  
estiveram comigo em todos os momentos  
da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Deus, obrigado por tudo, a cada dia que passa vejo o quanto é fundamental cultivar a fé, pois só assim conseguimos forças para enfrentar as batalhas do dia-a-dia, com todos os desafios que eles trazem.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Limpas do Centro Universitário de Maringá e todos os seus professores, pelos ensinamentos proporcionados.

A Fazenda Escola – BIOTEC, do Centro de Ensino Superior de Maringá/UNICESUMAR, por permitir a realização do experimento no local.

Ao prof. Dr. Fábio Luiz Bim Cavalieri, pela orientação deste trabalho, pelos ensinamento, amizade e incentivo para realização do trabalho.

Ao prof. Mestre Antonio Hugo Bezerra Colombo, pelos ensinamentos, paciência, amizade e por contribuir no progresso do trabalho.

Á prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Aparecida Andreazzi, pela disponibilidade tempo, auxilio e orientação.

Á todos que de alguma forma estiveram envolvidos com esse trabalho e contribuíram para a realização de mais um sonho.



Se pões tua confiança em Deus, ele moverá as coisas e situações de tal maneira que sejas favorecido por sua graça.

*“Aliás, sabemos que todas as coisas concorrem para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são os eleitos, segundo os seus designios.” Romanos 8, 28.*

### **Expressão do estro associado ou não ao GnRH nos programas de transferência de embriões em tempo fixo**

#### **RESUMO**

A crescente evolução da pecuária no Brasil posiciona o país como o maior rebanho bovino comercial do mundo e segundo maior produtor, exportador e consumidor de carne bovina. Por isso, pesquisadores desta cadeia produtiva vêm buscando tecnologias para aprimorar o manejo, sanidade, nutrição e reprodução, buscando aumentar a produção e ao mesmo tempo tornar a agropecuária mais sustentável na ótica econômica e ambiental. No setor reprodutivo, as biotécnicas da reprodução permitem aumentar a eficiência e a produtividade dos rebanhos, sendo a TETF um dos meios para alcançar estes objetivos, pois permite a replicação intensa de genética superior. Pesquisas devem ser conduzidas, almejando melhorar ainda mais a eficiência desta técnica, como é o caso da aplicação de GnRH para melhorar o aproveitamento das receptoras no protocolo de sincronização. Desta forma, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da aplicação de GnRH no protocolo de sincronização de receptoras bovinas, com ou sem manifestação de cio, sobre o diâmetro do corpo lúteo e sobre a taxa de gestação. Foram utilizadas 400 receptoras da raça Nelore, distribuídas em um esquema fatorial 2x2, considerando a marca do bastão marcador de cio (intacta ou ausente) e a aplicação GnRH (com ou sem aplicação). Todas as receptoras foram submetidas ao protocolo de sincronização de cio, e no dia 10, tiveram os ovários avaliados e foram analisadas quanto à expressão do cio, de acordo com a marca do bastão na base da cauda e divididas em 2 subgrupos: com e sem aplicação de GnRH. No Dia 18, todas as receptoras tiveram novamente seus ovários avaliados por US e foram inovuladas com embriões derivados de FIV, da raça Wagyu e, no Dia 41, foi realizado o diagnóstico de gestação. Conclui-se que o GnRh não apresentou diferença, em receptoras da raça Nelore, quanto ao diâmetro do CL, taxa de aproveitamento e taxa de concepção, mas observou-se melhor aproveitamento das receptoras que apresentaram o estro, em relação as que não apresentaram. Sugere-se que mais trabalhos sejam conduzidos para avaliar o emprego de biotécnicas da reprodução modificadas, a fim de contribuir com a sustentabilidade econômica e ambiental da cadeia produtiva de gado de corte.

**Palavras-chaves:** Bastão marcador; Biotecnologias da reprodução; Hormônio liberador de gonadotrofina; TETF.

## **GnRH in the synchronization of bovine receptors for fixed-time embryo transfer**

### **ABSTRACT**

The growing evolution of livestock in Brazil positions the country as the largest commercial cattle herd in the world and the second largest producer, exporter and consumer of beef. For this reason, researchers in this productive chain have been looking for technologies to improve management, health, nutrition and reproduction, seeking to increase production and at the same time make agriculture more sustainable from an economic and environmental perspective. In the reproductive sphere, the biotechnologies of reproduction allow to increase the efficiency and the productivity of the herds, being the Transfer of Embryos in Fixed Time. TETF contributes significantly to achieve these goals, as it allows for the intense replication of superior genetics. However, research should be conducted, aiming to further improve the efficiency of this technique, as is the case with the application of GnRH to improve the utilization of the recipient in the synchronization protocol. Thus, the objective of this research was to evaluate the effect of including the application of GnRH in the bovine recipient synchronization protocol, with or without estrus, on the diameter of the corpus luteum and on the pregnancy rate. 400 Nelore recipients were used, distributed in a 2x2 factorial scheme, considering the mark of the heat marker rod (intact, or absent) and the GnRH application (with or without application). All recipients were submitted to the estrus synchronization protocol, and on day 10, their ovaries were evaluated and analyzed for estrus expression, according to the stick mark at the base of the tail and divided into 2 subgroups: with and without application of GnRH. On Day 18, all recipients again had their ovaries evaluated by US and were transferred with embryos derived from FIV, of the Wagyu breed, and on Day 41, a pregnancy diagnosis was made. It was concluded that the GnRH did not show any difference, in Nelore breed recipients, in the diameter of the CL, utilization rate and conception rate, but better utilization of the recipients that presented estrus was observed, in relation to those that did not. It is suggested that more work be conducted to assess the use of modified breeding biotechniques in order to contribute to the economic and environmental sustainability of the beef cattle production chain.

**Keywords:** Marker stick; Reproductive biotechnology; FTET

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>3</b>
2.1. Objetivo geral .....	3
2.2. Objetivos específicos .....	3
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
3.1. . Sustentabilidade na pecuária de corte .....	4
3.2. Detecção do estro e utilização de GnRH .....	5
3.3. Progesterona e a manutenção da gestação .....	8
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>10</b>
<b>4. ARTIGO: Expressão do estro associado ou não ao GnRH nos programas de transferência de embriões em tempo fixo.....</b>	<b>15</b>
Resumo.....	15
Abstract.....	17
Introdução.....	18
Materiais e métodos.....	19
Resultado e discussão.....	23
Conclusão.....	28
Referências.....	29
<b>5. NORMAS DO ARTIGO .....</b>	<b>32</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>37</b>
<b>ANEXO</b>	

## LISTA DE TABELAS

	Páginas
<b>Tabela 1.</b> Diâmetro do folículo ovulatório em função da expressão do estro em receptoras da raça Nelore no pós parto.	24
<b>Tabela 2.</b> Diâmetro (mm) do corpo lúteo em função da expressão do estro e da aplicação de GnRH em receptoras da raça Nelore no pós parto.	25
<b>Tabela 3.</b> Proporção de receptoras que apresentaram corpo lúteo (Taxa de aproveitamento) no momento da transferência dos embriões em função expressão do estro e da aplicação do GnRH em receptoras da raça Nelore no pós parto.	26
<b>Tabela 4.</b> Taxa de concepção em função da expressão do estro e da aplicação do GnRH em receptoras da raça Nelore no pós parto.	27

## LISTA DE ABREVIATURAS

PIB – Produto Interno Bruto

TE – Transferência de embrião

CL – Corpo lúteo

TETF – Transferência de embrião em tempo fixo

FIV – Fertilização *in vitro*

ODS – Objetivos de desenvolvimento sustentável

IATF – Inseminação artificial em tempo fixo

P4 – Progesterona

E2 – Estrógeno

FSH – Hormônio foliculo estimulante

LH – Hormônio luteinizante

DFO – Diâmetro do folículo ovulatório

TC – Taxa de concepção

IFN-t - Interferon-tau

PGF2 $\alpha$  - Prostaglandina

D – Dia

BE – Benzoato de estradiol

CE – Cipionato de estradiol

E.C.G. – Gonadotrofina coriônica equina

mL – Mililitros

UI – Unidade internacional

US – Ultrassonografia

GnRH – Hormônio regulador de ganadotrofinas

## 1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva da carne bovina apresenta grande importância no mercado internacional, colocando o Brasil numa posição de grande destaque no mercado com o maior rebanho bovino comercial e maior exportador mundial (ABIEC, 2018). Contudo, buscando intensificar ainda mais este setor, deve-se considerar, dentre vários aspectos, a sustentabilidade social, econômica e ambiental (BORLACHENCO e GONÇALVES, 2017).

No setor produtivo bovino, os processos para aperfeiçoar a eficiência da cadeia envolvem o controle sanitário, nutricional, melhoramento genético e o desempenho reprodutivo, e para melhorar a eficiência reprodutiva, a introdução de biotécnicas reprodutivas é essencial. De fato, uma das maneiras para aumentar essa eficiência reprodutiva e alcançar a sustentabilidade nos processos produtivos é utilizar as biotécnicas da reprodução (BLONDIN, 2015). Para tanto, pode-se utilizar diferentes técnicas de reprodução, como as técnicas de inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE), e a produção *in vitro* de embriões (PIVE), que são práticas comerciais eficientes para acelerar o melhoramento genético (LIMA, 2017).

A TE é uma importante biotecnologia para exploração do potencial reprodutivo de fêmeas bovinas geneticamente superiores (VARAGO et al., 2008). Entretanto, diversos fatores influenciam a taxa de sobrevivência embrionária após a TE, em embriões de PIVE esta taxa diminui ainda mais, quando comparadas a de embriões *in vivo*, dentre os quais se destaca a qualidade do corpo lúteo (CL) e, conseqüentemente, as concentrações plasmáticas de progesterona (P4) das receptoras (DISKIN; MORRIS, 2008).

Para que ocorra o estabelecimento da gestação é necessária uma complexa interação entre o embrião, o ambiente uterino e o CL (LIMA; SOUZA, 2009), pois a P4, secretada pelo CL, provoca modificações no ambiente uterino, influenciando o crescimento e o desenvolvimento do conceito (MANN et al., 2003).

É importante a qualidade do CL das receptoras no momento da inovulação, em função de sua relação direta com a concentração plasmática de P4 (LUTTGENAU et al., 2011). Corpos Lúteos com menor tamanho reduzem a taxa de gestação em receptoras bovinas (VASCONCELOS et al., 2001). Baruselli et al. (2003) observaram que a área do CL influencia a concentração plasmática de P4 e a taxa de concepção em receptoras de embrião *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*, em que CLs com diâmetro maiores proporcionaram maiores concentrações plasmáticas de P4 e taxa de concepção.

A administração do GnRH no momento da IATF pode ser uma opção para aumentar a taxa de concepção em vacas de corte (HILL et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017), especialmente em vacas que não apresentam estro 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 (SÁ FILHO et al., 2011). O GnRH induz o pico pré-ovulatório do LH, sincronizando o momento da ovulação e auxiliando na formação de um CL funcional (GOTTSCHELL et al., 2008; PERRY e PERRY, 2009).

Desta forma, visando aumentar a taxa de gestação nas receptoras de embriões, estratégias hormonais que mantenham as concentrações plasmáticas de P4 elevadas são investigadas (BÓ et al., 2012). Entre estas estratégias, destaca-se o tratamento com análogos do Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), que modula a dinâmica folicular e melhora a função do CL original, além de possibilitar a formação de CL acessórios (SILVA; COSTA, 2005; HOWARD et al., 2006; MACHADO et al., 2008).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito da administração de GnRH, no protocolo de sincronização de receptoras bovinas, para Transferência de Embriões em Tempo Fixo (TETF) com ou sem manifestação de cio.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Avaliar a taxa de manifestação de estro em fêmeas bovinas da raça Nelore.
- Correlacionar os dados da marca do bastão com a presença e o diâmetro do folículo dominante ou do corpo lúteo;
- Avaliar a relação entre o diâmetro do folículo dominante e o subsequente diâmetro do CL no dia da TE, em receptoras bovinas com ou sem a manifestação de cio e com ou sem a aplicação de GnRH;
- Avaliar a taxa de aproveitamento das receptoras no dia da TE.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. SUSTENTABILIDADE NA PECUÁRIA DE CORTE

O conceito de sustentabilidade abrange três dimensões: econômica, ambiental e social. A dimensão ambiental envolve a produção e o consumo de modo a garantir que os ecossistemas tenham resiliência e possam manter sua autorreparação, para que não haja um limite dos recursos naturais. A econômica pressupõe o aumento da eficiência da produção e do consumo, ligada à contínua inovação tecnológica, buscando a economia crescente dos recursos naturais e, a dimensão social prevê que todos os cidadãos tenham o mínimo necessário para uma vida digna (NASCIMENTO, 2012; GIOVANNONI e FABIETTI, 2013; MARCO; MEZZAROBÀ, 2017).

O desenvolvimento sustentável foi definido no relatório “Nosso futuro comum” como todos os processos que atendem as necessidades atuais sem comprometer a sobrevivência das gerações futuras (WCED, 1987). E para garantir este desenvolvimento, as formas de produção de alimentos também devem ser consideradas, inclusive na pecuária. Destaca-se que a preocupação com as formas de produção de alimentos de forma sustentável segue ao encontro dos Objetivos do Desenvolvimento Sustentável (ODS) e, dentre os 17 objetivos listados, dois se relacionam diretamente ao tema, o ODS2 e o ODS15 (UNESCO, 2015).

As metas apontadas no ODS 2 enfatizam a necessidade de acabar com a fome, dobrar a produtividade agrícola, garantir sistemas sustentáveis de produção de alimentos e implementar práticas agrícolas resilientes, que aumentem a produtividade e a produção, já as metas do ODS 15 apontam sobre o uso sustentável dos ecossistemas terrestres (UNESCO, 2015; SILVA et al., 2016) afirmaram que a pecuária de corte brasileira pode contribuir para o alcance destas metas, sobretudo no que tange a recuperação de pastagens degradadas e consequente aumento da capacidade de lotação animal e da produção de carne bovina por área. De fato, a produção pecuária em área inadequada reduz a eficiência reprodutiva do rebanho e o ganho de peso diário (BRAGAGLIO et al., 2018).

Considerando o aumento da produção de alimentos, e no caso da pecuária de corte brasileira, destaca-se atualmente a produção de carne de animais da raça Wagyu, que apresenta grande importância comercial e econômica em função do alto nível de marmoreio intramuscular, o que torna a carne macia, suculenta, saborosa, sendo destaque na gastronomia internacional (GOTOH et al., 2018).

Para incrementar a produção pecuária, independente da raça, deve-se considerar também o emprego das biotécnicas da reprodução como protocolos de aspiração folicular (OPU), fertilização *in vitro* (FIV), inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (CARVALHO; ZEN, 2017) e transferência de embriões em tempo fixo (TETF), que contribuem para o aumento da produção, possibilitando a exploração de animais de valor genético superior (PELLEGRINO, 2013).

A preocupação com a pecuária sustentável também está presente no Código de Boas Práticas para Organizações de Reprodução de Animais, que descreve o termo “Melhoramento sustentável”, como ações que equilibram segurança alimentar, saúde pública, qualidade do produto, diversidade genética, eficiência, meio ambiente, saúde e bem-estar animal de maneira economicamente viável (FABRE-TP, 2006; EFFAB, 2009).

Objetivando melhorar os índices de desempenho dos rebanhos e tornar a agropecuária mais sustentável nos aspectos econômicos e ambientais, pesquisas vêm sendo desenvolvidas baseadas no emprego de diferentes biotécnicas da reprodução (COLOMBO et al., 2017; BURALI, 2018). Contudo, o sucesso na utilização das biotécnicas reprodutivas e a redução dos gastos no manejo reprodutivo dependem do conhecimento da fisiologia reprodutiva dos machos e das fêmeas e dos protocolos de controle do ciclo estral, utilizados na sincronização e detecção do cio ou no momento da TE (LIMA, 2017).

### 3.2. DETECÇÃO DO ESTRO E UTILIZAÇÃO DE GnRH

O ciclo estral dos bovinos apresenta duração média de 21 dias e é dividido em duas fases distintas, a fase folicular, caracterizada pelo desenvolvimento do folículo e culmina com a ovulação, e a fase luteínica, caracterizada pelo desenvolvimento do CL, que é uma estrutura formada após a ruptura do folículo, que produz P4, o hormônio responsável pela manutenção da gestação. Se o óvulo for fertilizado, o CL será mantido, caso contrário, ocorrerá sua regressão e terá início uma nova fase folicular. Os eventos que ocorrem durante o ciclo estral são regulados pela interação do Hormônio Liberador das Gonadotrofinas (GnRH), Hormônio Folículo Estimulante (FSH), Hormônio Luteinizante (LH), Estradiol (E2) e Progesterona (P4) (SWENSON; REECE, 2017).

O estro ou cio é o período da fase reprodutiva na qual a fêmea apresenta sinais de receptividade sexual, seguida de ovulação. Em bovinos, a duração média do estro é de, aproximadamente, 12 horas, e a ovulação ocorre de 12 a 16 horas após o término do cio (SWENSON; REECE, 2017).

O sucesso de algumas biotécnicas da reprodução depende da identificação correta do cio. Na IA, por exemplo, a observação visual do cio é o método convencional mais utilizado (RORIE et al., 2002), porém, a taxa de detecção de cio varia de um rebanho para o outro, com valores entre 30 a 70% das vacas sendo detectadas (DISKIN; SREENAN, 2000). Assim, a observação visual do cio exige intensa utilização de mão de obra e habilidade dos pecuaristas. Porém, o decréscimo da mão de obra no setor pecuário tem dificultado a observação, resultando em queda na produtividade e em perdas econômicas (RAO et al., 2013).

Por isso, com o passar dos anos, tem se estudado e empregado protocolos a base de homônios, que permitem a sincronização do estro nas fêmeas. Contudo, ressalta-se que vacas que apresentam baixa expressão de cio ou não o apresentam, reduzem a taxa de gestação e o aproveitamento do rebanho (SILVA et al., 2016). Por isso, existem algumas estratégias que, além de demandarem menos mão de obra na detecção do cio, também podem melhorar os resultados em animais com baixa expressão de cio, como é o caso da utilização de indutores de ovulação como o GnRH (NOGUEIRA et al., 2016). Esta estratégia aumenta a taxa de prenhez e a taxa de serviço do rebanho, reduz o intervalo entre partos e aumenta a eficiência do manejo e a lucratividade.

A administração do GnRH no momento da IATF pode ser uma opção para aumentar a taxa de concepção em vacas de corte (HILL et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017), especialmente em vacas que não apresentam estro 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 (SÁ FILHO et al., 2011). O GnRH induz o pico pré-ovulatório do LH, sincronizando o momento da ovulação e auxiliando na formação de um CL funcional (GOTTSCHELL et al., 2008; PERRY; PERRY, 2009).

Nos protocolos hormonais de sincronização, a associação entre estrógenos e P4, diminuem os níveis circulantes de FSH e LH, promovendo a regressão dos folículos dependentes de gonadotrofinas (BÓ et al., 2012). Após a metabolização e diminuição dos níveis plasmáticos do E2, ocorre aumento subsequente das concentrações de FSH endógeno com consequente emergência de uma nova onda de crescimento folicular (MARTÍNEZ et al., 2005).

Este mecanismo de ação age por meio da retroalimentação negativa sobre a secreção de LH (KINDER et al., 1996) mas não interfere na secreção de FSH, evitando a maturação folicular final, estro e a ovulação do folículo dominante (SÁ FILHO et al., 2011). Ao retirar a fonte de P4, e na ausência de um CL funcional pela aplicação de uma prostaglandina, o animal apresentará um folículo pré-ovulatório capaz de responder à uma determinada indução da ovulação (BÓ et al., 1994).

Os protocolos hormonais utilizados permitem sincronizar a emergência da onda folicular, encerrar a atividade de um possível CL e induzir a ovulação sincronizada do folículo dominante ao final do tratamento hormonal (MENEGETTI et al., 2009), proporcionando a sincronização do estro em 80 a 90% dos tratamentos (SOUZA et al., 2015).

O diâmetro do folículo ovulatório (DFO) é um importante indicador de fertilidade em fêmeas zebu e, a presença de um folículo ovulatório de maior diâmetro, aumenta a ocorrência de estro, resultando em maior taxa de concepção (PERRY et al., 2007). Estudos recentes demonstraram que vacas que apresentam estro ao final do protocolo, possuem maior concentração de estradiol e, conseqüentemente, maior possibilidade de se tornar gestante do que aquelas sem ocorrência de estro (THOMAS et al., 2014; RICHARDSON et al., 2016; FERRAZ et al., 2017).

Porém, mensurar o DFO após o protocolo de sincronização requer auxílio da ultrassonografia (SIROIS; FORTUNE, 1988) além da detecção das fêmeas em cio. Por isso, alguns métodos auxiliares foram desenvolvidos para aumentar a eficiência da detecção de estro em vacas, dentre eles o bastão marcador, que consiste na aplicação de tinta colorida na região sacro-caudal das vacas logo após a retirada dos implantes de P4 e que permite avaliar a intensidade da monta pela retirada da tinta, indicando a expressão de cio das vacas. Fêmeas bovinas podem ser avaliadas quanto à expressão do cio por meio da verificação do *status* da marca do bastão na base da cauda do animal (LOIOLA et al., 2018). Segundo Ferraz et al. (2017), animais com a marca do bastão intacta, compõem o grupo não-estro, animais com marca parcial, caracterizam o grupo que expressa baixa intensidade de estro e os animais sem a marca do bastão, ou seja, marca ausente, compõem o grupo de animais que expressam alta intensidade de estro.

O bastão pode ser utilizado como uma ferramenta alternativa, prática e acessível para a detecção de estro após o término do protocolo, substituindo os métodos mais onerosos de difícil aplicabilidade em rebanhos bovinos de corte (SÁ FILHO et al., 2001; FERRAZ et al., 2017).

Desta forma, a identificação do estro empregando o bastão marcador associada à aplicação de GnRH pode melhorar a eficiência da TETF. A administração de GnRH em vacas que apresentam cio é positiva, contudo, sua administração em vacas que não apresentam estro após a retirada do dispositivo de P4 pode favorecer a TETF, pois o GnRH induz o pico de LH, sincroniza a ovulação e auxilia a formação de um CL (GOTTSCHALL et al., 2008; PERRY; PERRY, 2009), o qual irá produzir P4, o hormônio responsável pela manutenção da gestação.

### 3.3. PROGESTERONA E A MANUTENÇÃO DA GESTAÇÃO

A P4 é um hormônio esteroide, lipossolúvel, oriundo do colesterol e presente na circulação sanguínea ligada a globulina, uma importante proteína transportadora (SWENSON; REECE, 2017). Originada do colesterol circulante, a P4 é sintetizada pelo CL no ovário, na placenta e no córtex da glândula adrenal e, além dos efeitos hormonais, ela atua como precursora dos estrogênios, androgênios e esteroides do córtex da glândula adrenal (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

A P4 se relaciona com o processo da ovulação, instalação e manutenção da gestação (LEONHARDT; EDWARDS, 2002) e atua, com regularidade, em sinergismo com o estrógeno, desempenhando várias funções no desenvolvimento do lóbulo alveolar da glândula mamária, na atividade secretora do oviduto e das glândulas endometriais, no suprimento de nutrientes para o desenvolvimento do embrião antes de sua implantação, na inibição da contração uterina no decorrer da gestação e no ajuste da secreção de gonadotrofinas (SWENSON; REECE, 2017). As concentrações de P4 estabelecem a secreção de LH, ocorrendo redução dos pulsos do LH quando tem altas concentrações de P4 e aumento da frequência de LH quando P4 está em baixas concentrações (LEONHARDT; EDWARDS, 2002).

A expressão “reconhecimento materno da gestação” é o modo pelo qual o concepto sinaliza sua presença à unidade materna, estendendo a vida do CL e mantendo a gestação (SPENCER; BAZER, 2004). A manutenção do CL garante a produção contínua de P4 essencial para preparar o endométrio para implantação e nutrição embrionária (BAZER et al., 2008).

Também durante o reconhecimento materno da gestação, as células mononucleares do trofoblasto do concepto, secretam a proteína Interferon-Tau (IFN-t) entre os dias 10 a 25 de gestação, com geração máxima entre os dias 14 a 16 (SPENCER et al., 2004). O IFN-t liga-se em receptores específicos nas células endometriais, formando o fator de transcrição que é translocado para o núcleo (BINELLI et al., 2001). Essa ação inibe a transcrição de receptores de estrógeno (E2) e ocitocina e a liberação de prostaglandina, prevenindo, desta forma, a regressão funcional e estrutural do CL (luteólise) (SPENCER et al., 2007). O efeito antiluteolítico do IFN-t, preserva a secreção de P4 que é essencial para a manutenção do ambiente uterino e para o sucesso do desenvolvimento do concepto até o parto (SPENCER et al., 2004).

Dentre os vários fatores que interferem na ligação materno-fetal, o principal hormônio que controla o processo de reconhecimento materno é a P4 (MANN; LAMMING, 2001). Nas espécies animais, os níveis plasmáticos de P4 mudam conforme o desenvolvimento, a manutenção e a regressão do CL (HAFEZ; HAFEZ, 2004). Mann e Lamming (2001) constataram que o desenvolvimento embrionário é prejudicado quando há baixa exposição de P4 após a concepção. Nesta situação é identificado que houve pouca liberação de IFN-t e ocorreu transcrição de receptores de ocitocina no epitélio luminal do endométrio, liberando PGF2 $\alpha$ . De acordo com Kenyon et al. (2013), um aumento na concentração de P4 durante o metaestro e início do diestro está relacionado com o estabelecimento da gestação após a TE, o que indica que a concentração de P4, tem um efeito direto sobre o desenvolvimento do embrião, por meio da modulação do ambiente uterino e secreção histotrófica.

### 3.REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES - ABIEC. Perfil da Pecuária no Brasil. Relatório Anual, 2017, São Paulo: ABIEC, 2018. 48p

BARUSELLI, P. S. IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho. **Revista CFMV**. v. 22, n. 69, p. 57-60, 2016.

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T.; BERBER, R.C.A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A.F.; COSTA NETO, W.P. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo “Ovsynch” para inovulação em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 40, n. 1, p. 96-106, 2003.

BAZER, F. W.; BURGHARDT, R. C.; JOHNSON, G. A.; SPENCER, T. E.; WU, G. Interferons and progesterone for establishment and maintenance of pregnancy: interactions among novel cell signaling pathways. **Reproductive Biology**, v. 8, n. 3, p. 179-211, 2008.

BINELLI, M.; TATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P.S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n.1, p. 1451-1463, 2001.

BLONDIN, P. Status of embryo production in the world. **Animal Reproduction**. v. 12, n.3, p. 356-358, 2015.

BÓ, G.A.; PERES, L.C.; CUTAIA, E.L.; PINCINATO, D.; BARUSELLI, P.S.; MAPLETOFT, R.J. Treatments for the synchronization of bovine recipients for fixed-time embryo transfer and improvement of pregnancy rates. **Reproduction Fertility Development**. v. 24, n. 1 p. 272– 277, 2012.

BÓ, G.A.; PIERSON, R.A.; TRIBULO, H.E.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R.J. Follicular waves dynamic after estradiol treatment of heifers with or without progesterone implant. **Theriogenology**. v. 41, n. 1, p. 1555-1569, 1994.

BORLACHENCO, N.G.C.; GONÇALVES, A.B. Expansão agrícola: elaboração de indicadores de sustentabilidade nas cadeias produtivas de Mato Grosso do Sul. **Interações**, v. 18, n. 1, p. 119-128, 2017.

BRAGAGLIO, A.; NAPOLITANO, F.; PACELLI, C.; PIRLO, G.; SABIA, E.; SERRAPICA, F.; SERRAPICA, M.; BRAGHIERI, A. Environmental impacts of Italian beef production: a comparison between different systems. **Journal of Cleaner Production**. v. 172, n.1, p. 4033-4043, 2018.

DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 43, n. 1, p. 260-267, 2008.

DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Expression and detection of oestrus in cattle. **Reproduction Nutrition Development, Les Ulis Cedex**. v. 40, n. 1, p. 481–491, 2000.

EFFAB. Code of Good Practice for Farm Animal Breeding and Reproduction Organisations. 2009.

FABRE-TP. Sustainable animal breeding and reproduction: A vision for 2025. **Journal of Animal Science**. v. 87, 2006.

FERRAZ, P.A.; LOIOLA, M.V.G.; RODRIGUES, A.S.S.; LIMA, M.C.C.; BITTENCOURT, T.C.B. S.C.; RIBEIRO FILHO, A.L. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of Nelore cows managed under a FTAI program. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, e37643, 2017.

GOTOH, T.; NISHIMURA, T.; KUCHIDA, K.; MANNEN, K. The Japanese Wagyu beef industry: current situation and future prospects – a review. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**. v. 31, n. 7, p. 933, 2018.

GOTTSCHALL, C.S.; MARQUES, P.R.; ALMEIDA, M.R.A. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**. v. 164, n. 1, p. 43-48, 2008.

HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 7. ed. São Paulo: Manole. p. 513, 2004.

HILL, S.L.; GRIEGER, K.C.; OLSON, J.R.; JAEGER, C.R.; DAHLEN, G.A.; BRIDGES, F.; ET AL. Using estrus detection patches to optimally time insemination improved pregnancy risk in suckled beef cows enrolled in a fixed-time artificial insemination program. **Journal Animal Science**. v. 94, n.1, p.3703-3710, 2016.

HILL, S.L.; GRIEGER, D.M.K.; OLSON, C.; JAEGER, J.R.; DAHLEN, C.R.; UNDERDAHL, S.R.; BRIDGES, G.A.; LARSON, J.E.; AHOLA, J.K.; FISCHER, M.C.; PERRY, G.A.; STECKLER, T.L.; WHITTIER, W.D.; CURRIN, J.F.; STEVENSON, J.S. Using estrus-detection patches to optimally time artificial insemination (AI) and improve pregnancy rates in suckled beef cows in a timed AI program. **Journal of Animal Science**. v. 94, p. 3703-3710, 2016.

HOWARD, J.M.; MANZO, R.; DALTON, J.C.; FRAGO, F.; AHMADZADEH, A. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. **Animal Reproduction Science**, v. 95, n. 1, p. 224- 233, 2006.

KENYON, A.G.; MENDONÇA, L.G.; LOPES, G.J.R.; LIMA, J.R.; SANTOS, J.E.; CHEBEL, R.C. Minimal progesterone concentration required for embryo survival after embryo transfer in lactating Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 136, n. 4, p. 223-230, 2013.

KINDER, J.E.; KOJIMA, F.N.; BERGFELD, E.G.; WEHRMAN, M.E.; FIKE, K.E. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistente ovarian follicles in cattle. **Journal Animal Science**. v.74, n. 6, p. 1424-1440, 1996.

LEONHARDT, S.A.; EDWARDS, D.P. Mechanism of action of progesterone antagonists. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, n. 1, p. 969-980, 2002.

LIMA, I.M.T.; SOUZA A.L. Desenvolvimento e Sobrevivência de Embriões no Período de Pré implantação: Enfoque em Ruminante. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. Belo

Horizonte, v. 33, n. 1, Oct./Dez. 2009.

LIMA, J.S. **Monografia de conclusão de curso** – Universidade Federal do Maranhão. Reprodução assistida na bovinocultura de corte. p. 60, 2017.

LIMA FILHO, D.O.; AZEVEDO, D.B.; TEIXEIRA, M.G.; SILVA, E.B. A dimensão ambiental da sustentabilidade em pauta no setor de bovinocultura de corte: análise dos diálogos entre stakeholders sul-mato-grossenses. **Revista Metropolitana de Sustentabilidade**. v. 7, n. 2, p. 43-67, 2017.

LOIOLA, M. V. G.; BITTENCOURT, R. F.; RODRIGUES, A.S.; FERRAZ, P.A.; LIMA, M. C.C.; CARVALHO, C.V.D.; RIBEIRO FILHO, A.L. Oral progesterone supplementation for beef cattle after insemination in TAI programs. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 53, n.1, p. 105-112, 2018.

LUTTGNAU, J.; ULBRICH, S.E.; BEINDORFF, N.; HONNENS, A.; HERZOG, K.; BOLLWEIN, H. Plasma progesterone concentrations in the midluteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. **Theriogenology**. v. 125, n. 1, p. 20-25, 2011.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.; BARBOSA, R.T.; DE OLIVEIRA, C.A.; BINELLI, M. Ovarian function in Nelore (*Bos taurus indicus*) cows after post-ovulation hormonal treatments. **Theriogenology**. v. 69, n. 1 p. 798-804, 2008.

MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BÓ, G.A.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R.J. Effects of estradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**. v. 86, n. 1, p. 37-52, 2005.

MANN, G.E.; GREEN, M.P.; SINCLAIR, K.D.; DEMMERS, K.J.; FRAYC, M.D.; GUTIERREZ, C.; GARNSWORTHY, P.; WEBB, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**. v. 79, n. 1, p. 71-79, 2003.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.J.; PERES, R.; LAMB, G.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**. v. 72, n. 1, p. 179-189, 2009.

NASCIMENTO, E.P. The trajectory of sustainability: from environmental to social, from social to economic. **Estudos avançados**. v. 26, n. 74, p. 51-64, 2012.

NOGUEIRA, E. ; RODRIGUES, W. B.; SILVA, A.S.; BORGES-SILVA, J.C.; SILVA, K.C.; ANACHE, N.A.; BEZERRA, A.O.; LEÃO B.C.S., ROCHA-FRIGONI N.A.S., MINGOTI, G.Z. GnRH application in cows with low or no estrus expression evaluated with tail-chalk increases the pregnancy rate in beef cows submitted to TAI. **Animal Reproduction**. v. 13, n. 3, p. 457, 2016.

OLIVEIRA, L.S.R.; SOUZA A.L.B.; KOZICKI L.E.; SEGUI M.; PEDOSA V.B.; DELL'AQUA JUNIOR, J.A. ET AL. Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo. **Veterinária e Zootecnia**. v. 24, n. 1, p. 363-372, 2017.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (ONU). **Agenda 2030**. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/pos2015/agenda2030/>>. Acesso em 19/05/2019.

PELLEGRINO, C.A.G. **Avaliação econômica da produção in vitro de embriões bovinos de diferentes grupos genéticos em sistema comercial**. 2013. 125f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

PERRY, G.A.; PERRY, B.L. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. **Theriogenology**. v. 71, n. 1, p. 775-779, 2009.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; ROBERTS, A.J.; MACNEIL, M.D.; GREARY, T.W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal Animal Science**. v. 85, n. 1, p. 684-689, 2007.

RAO, T.K.S.; KUMAR, N.; KUMAR, P.; CHAURASIA, S.; PATEL, N.B. Heat detection techniques in cattle and buffalo. **Veterinary World**. v. 6, n. 1, p. 363-369, 2013.

RICHARDSON, B.N.; HILL, S.L; STEVENSON, J.S.; DJIRA, G.D.; PERRY, G. A. Expression of estrus before fixed-time AI affects conception rates and factors that impact expression of estrus and the repeatability of expression of estrus in sequential breeding seasons. **Animal Reproduction Science**. v. 166, n. 1, p. 133-140, 2016.

RORIE, R.W.; BILBY, T.R.; LESTER, T.D. Application of electronic estrus detection technologies to reproductive management of cattle. **Theriogenology**. v. 57, n. 1, p. 137-148, 2002.

SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P.; FERREIRA, R.M.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. Importance of estrus on pregnancy submitted to estradiol/progesterone- based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, p. 455-463, 2011.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G; LAMB, G.C; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**. v. 72, n. 1, p. 210-218, 2009.

SILVA, J.C; COSTA, L.L. Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 49- 60, 2005.

SILVA, K.C.; RODRIGUES, W. B.; SILVA, A.S.; BORGES-SILVA, J.C.; ABREU, U.B.G.; BATISTA, D.S.N; ANACHE, N.A.; BEZERRA, A.O.; JARA, J.; NOGUEIRA, E. Escore de cio avaliado com bastões marcadores influencia as taxas de gestação de vacas Nelore submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo Fixo. **Animal Reproduction**. v. 13, n. 3, p. 451, 2016

SILVA, R.O.; BARIONI, L.G.; HALL, J.A.J.; MATSUURA, M.F.; ALBERTINI, T.Z.; FERNANDES, F.A.; MORAN, D. Increasing beef production could lower greenhouse gas emissions in Brazil if decoupled from deforestation. **Nature Climate Change**, v. 6, n. 1, p. 493-497, 2016.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**. v. 39, n. 1, p. 308-317, 1988.

SOUZA, A.L.B.; KOZICKI, L.E.; PEREIRA, J.F.S.; SEGUI, M.S.; WEISS, R.R.; BERTOL, M.A.F. Eficiência da gonadotrofina coriônica equina (eCG) e do desmame temporário (DT) em protocolos para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas Nelore, previamente tratadas com progesterona (P4) e Benzoato de Estradiol (BE). **Archives of Veterinary Science**. v. 20, n. 1, p. 22-29, 2015.

SPENCER, T. E.; BAZER, F. W. Uterine and placental factors regulating conceptus growth in domestic animals. **Journal of Animal Science**, v. 82, n. 1, p. 13-14, 2004.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W.; BURGHARDT, R. C. Fetalmaternal interactions during the establishment of pregnancy in ruminants. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v. 6, n. 1, p. 379-396, 2007.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; BAZER, F. W. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. **Biology of Reproduction**, v. 71, n. 1, p. 2-10, 2004.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. D. Fisiologia dos animais domésticos. 13. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro: 2017. 902p.

THOMAS, J.M.; POOCK, S.E.; ELLERSIECK, M.R.; SMITH, M.F.; AND PATTERSON, D.J. Delayed insemination of non-estrous heifers and cows when using conventional semen in timed artificial insemination. **Journal Animal Science**. V. 92, n. 1, p. 4189-4197, 2014.

VARAGO, F.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES, M.A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 1, p. 100-109, 2008.

VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUINThER, J.G.; WILTBANK, M.C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**. v. 56, n. 1, p. 307-314, 2001.

#### 4. ARTIGO

### EXPRESSÃO DO ESTRO OU GnRH NA SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS BOVINAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM TEMPO FIXO NÃO ALTERA A TAXA DE CONCEPÇÃO

*(Expression of estrus or GnRH in the synchronization of bovine receptors for transfer of embryos at fixed time does not change the pregnant rate)*

#### RESUMO

A pecuária no Brasil posiciona o país como o maior rebanho bovino comercial do mundo e segundo maior produtor, exportador e consumidor de carne bovina. Por isso, pesquisadores vêm buscando tecnologias para aprimorar o manejo, sanidade, nutrição e reprodução, buscando aumentar a produção e ao mesmo tempo tornar a agropecuária mais sustentável na ótica econômica e ambiental. O experimento foi realizado na Fazenda Unicesumar, no período de março a novembro de 2019, foram utilizadas 400 receptoras da raça Nelore, distribuídas em um esquema fatorial 2x2, considerando a marca do bastão marcador de cio (intacta ou ausente) e a aplicação GnRH (com ou sem aplicação). Todas as receptoras foram submetidas ao protocolo de sincronização de cio, e no dia 10, seus ovários foram avaliados e analisados quanto à expressão do cio, de acordo com a marca do bastão na base da cauda, e após divididas em 2 subgrupos: com e sem aplicação de GnRH. No Dia 18, todas as receptoras tiveram novamente seus ovários avaliados por US, sendo inovuladas com embriões derivados de FIV, da raça Wagyu. No dia 41, foi realizado o diagnóstico de gestação. Os resultados demonstram que o GnRH não apresentou diferença, em receptoras da raça Nelore, quanto ao diâmetro do CL, taxa de

aproveitamento e taxa de concepção, mas observou-se melhor aproveitamento das receptoras que apresentaram o estro, em relação as que não apresentaram.

**Palavras-chaves:** Bastão marcador; Biotecnologia da reprodução; Hormônio liberador de gonadotrofina; TETF

**ABSTRACT**

The growing evolution of livestock in Brazil positions the country as the largest commercial cattle herd in the world and the second largest producer, exporter and consumer of beef. For this reason, researchers in this productive chain have been looking for technologies to improve management, health, nutrition and reproduction, seeking to increase production and at the same time make agriculture more sustainable from an economic and environmental perspective. The experiment was carried out at Fazenda Unicesumar, from 01/03/2019 to 11/30/2019, 400 Nellore recipients were used, distributed in a 2x2 factorial scheme, considering the mark of the estrus marker stick (intact, or absent) and the GnRH application (with or without application). All recipients were submitted to the estrus synchronization protocol, and on day 10, their ovaries were evaluated and analyzed for estrus expression, according to the stick mark at the base of the tail and divided into 2 subgroups: with and without application of GnRH. On Day 18, all recipients again had their ovaries evaluated by US and were innovated with embryos derived from FIV, of the Wagyu breed, and on Day 41, a pregnancy diagnosis was made. It was concluded that the GnRH did not show any difference, in Nellore breed recipients, regarding the diameter of the CL, utilization rate and conception rate, but there was a better utilization of the recipients that presented estrus, in relation to those that did not.

**Keywords:** Marker stick; Reproductive biotechnology; FTET

## INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva da carne bovina apresenta grande importância no mercado internacional, colocando o Brasil numa posição de grande destaque no mercado com o maior rebanho bovino comercial e maior exportador mundial (ABIEC, 2018). Contudo, buscando intensificar mais ainda este setor, deve-se considerar, dentre vários aspectos, a sustentabilidade social, econômica e ambiental (BORLACHENCO e GONÇALVES, 2017).

No setor produtivo bovino, os processos para aperfeiçoar a eficiência da cadeia envolvem o controle sanitário, nutricional, melhoramento genético e o desempenho reprodutivo, e para melhorar a eficiência reprodutiva, a introdução de biotécnicas reprodutivas é essencial. De fato, uma das maneiras para aumentar a eficiência reprodutiva e alcançar a sustentabilidade nos processos produtivos é utilizar as biotécnicas da reprodução (BLONDIN et al., 2015). Para tanto, pode-se utilizar diferentes técnicas de reprodução, como as técnicas de inseminação artificial (IA), a transferência de embriões (TE), e a produção *in vitro* de embriões (PIVE), que são práticas comerciais eficientes para acelerar o melhoramento genético (LIMA, 2017).

A TE é uma importante biotecnologia para exploração do potencial reprodutivo de fêmeas bovinas geneticamente superiores (VARAGO et al., 2008). Entretanto, diversos fatores influenciam a taxa de sobrevivência embrionária após a TE, em embriões de PIVE esta taxa diminui ainda mais, quando comparadas a de embriões *in vivo*, dentre os quais se destaca a qualidade do corpo lúteo (CL) e, conseqüentemente, as concentrações plasmáticas de progesterona (P4) das receptoras (DISKIN e MORRIS, 2008).

Para que ocorra o estabelecimento da gestação é necessária uma complexa

interação entre o embrião, o ambiente uterino e o CL (LIMA e SOUZA, 2009), pois a P4, secretada pelo CL, provoca modificações no ambiente uterino, influenciando o crescimento e o desenvolvimento do concepto (MANN et al., 2003).

É importante a qualidade do CL das receptoras no momento da inovulação, em função de sua relação direta com a concentração plasmática de P4 (LUTTGENAU et al., 2011). Corpos Lúteos com menor tamanho reduzem a taxa de gestação em receptoras bovinas (VASCONCELOS et al., 2001). BARUSELLI et al. (2003) observaram que a área do CL influencia a concentração plasmática de P4 e a taxa de concepção em receptoras de embrião *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*, em que CLs com diâmetro maiores proporcionaram maiores concentrações plasmáticas de P4 e taxa de concepção.

A administração do GnRH no momento da IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) pode ser uma opção para aumentar a taxa de concepção em vacas de corte (HILL et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017), especialmente em vacas que não apresentam estro 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 (SÁ FILHO et al., 2011). O GnRH induz o pico pré-ovulatório do LH, sincronizando o momento da ovulação e auxiliando na formação de um CL funcional (GOTTSCHALL et al., 2008; PERRY e PERRY, 2009), todavia em protocolos de sincronização de receptoras para a transferência de embriões a utilização do GnRH ainda não foi avaliada.

Desta forma, visando aumentar a taxa de gestação nas receptoras de embriões bovinos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão do estro associado ou não ao GnRH, na taxa de aproveitamento e gestação em receptoras da raça Nelore.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado na Fazenda Escola – BIOTEC, do Centro de Ensino Superior de Maringá/ UNICESUMAR, Maringá, Paraná, Brasil (23°25'S, 51°57'W e altitude de 550 metros), no período de 01/03/2019 a 30/11/2019. As técnicas empregadas nesta pesquisa foram aprovadas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Maringá / UNICESUMAR.

Foram utilizadas 400 receptoras da raça Nelore, mantidas em piquetes de braquiária (*Brachiaria brizantha* cv MG-5), com suplementação mineral e água *ad libitum*, sendo submetidas a manejo higiênico-sanitário adotado na propriedade.

Inicialmente, todas as receptoras foram submetidas, no Dia 0 (D0), um dia aleatório do ciclo, ao protocolo de sincronização, recebendo 2,0 mg de Benzoato de Estradiol (BE) (Zoetis, São Paulo, SP ) intramuscular, e a inserção de dispositivo intravaginal de P4 multiuso (Zoetis, São Paulo, SP). No Dia 8 (D8) foi feita a aplicação de 0,15 mg de PGF2 $\alpha$  (Zoetis, São Paulo, SP), a remoção do implante de P4, a aplicação de 1,0 mg de Cipionato de estradiol (CE) (Zoetis, São Paulo, SP) e 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (ECG) (Zoetis, São Paulo, SP), os animais foram marcados com bastão marcador (LA-CO Industries) na região sacrococcígea.

No Dia 10 (D10), dia estimado do estro, todas as receptoras tiveram seus ovários avaliados, por meio de ultrassonografia com o aparelho Ultrassom (US) (Aloka SSD-500<sup>TM</sup>) e, neste momento foi identificado e mensurado o diâmetro do folículo dominante. Neste dia, as receptoras também foram avaliadas quanto à expressão do cio, sendo verificado de acordo com o *status* da marca do bastão na base da cauda (LOIOLA et al, 2018) e classificadas em dois grupos:

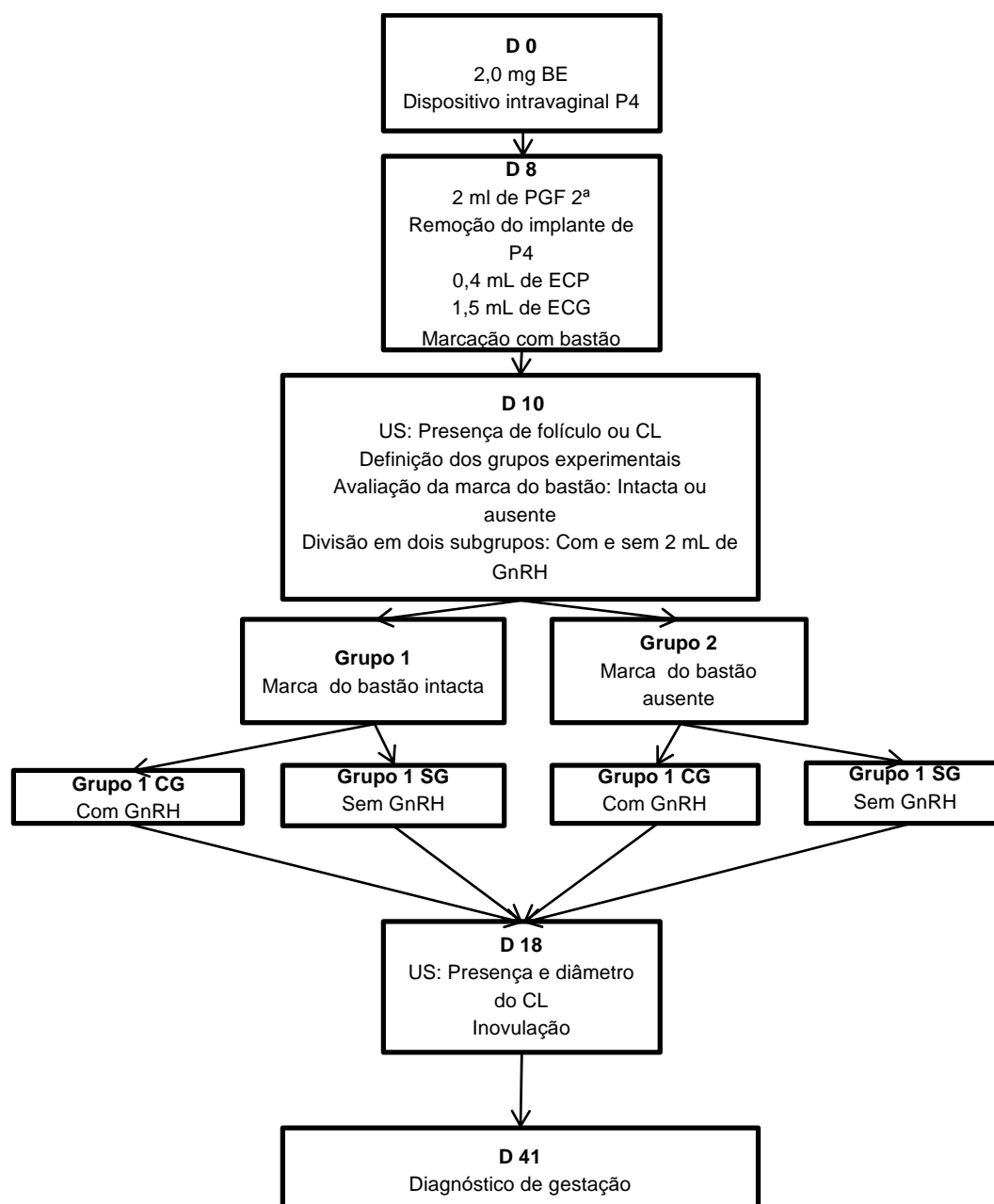
- Grupo 1: animais com a marca do bastão (intacta), caracterizando o grupo não-estro;

- Grupo 2: animais sem a marca do bastão (ausente), caracterizando o grupo que expressa alta intensidade de estro;

Neste momento, dentro de cada grupo, os animais foram divididos em 2 subgrupos, de acordo com a aplicação ou não de 0,01 mg de GnRH (Acetato de Buserelina, Ouro Fino, Cravinhos, SP, Brasil). No Dia 18 (D18), todas as receptoras tiveram novamente seus ovários avaliados por US, sendo observada a presença e o diâmetro do corpo lúteo e, neste momento, independente do diâmetro do corpo lúteo todas as receptoras que apresentaram CL tiveram um embrião inovulado. No Dia 41 (D41) foi realizado o diagnóstico de gestação, ou seja, 23 dias após a inovulação.

Desta forma, os animais foram divididos em um esquema fatorial 2 x 2, considerando a marca do bastão (intacta ou ausente) e aplicação GnRH (com ou sem aplicação).

**Figura 1.** Diagrama do design experimental.  
 Fonte: Autor (2019).



Para a obtenção dos embriões, 25 doadoras das raças Wagyu foram aspiradas, e seus oócitos foram quantificados, classificados, maturados (MIV), fertilizados (FIV) com sêmen convencional de um touro da raça Wagyu e, após a fertilização, os zigotos foram cultivados in vitro (CIV) e, por fim, inovulados nas receptoras no dia 18 (D18) do protocolo.

### Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e as variáveis foram analisadas pelo procedimento PROC GENMOD do programa estatístico SAS (2000), versão 8.01, utilizando-se distribuição binomial e função de ligação identidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Podemos observar na Tabela 01 que as receptoras da raça Nelore no pós parto, que expressaram sinais de estro, observados através da presença ou ausência do bastão marcador, apresentaram um aumento ( $P < 0,05$ ) no diâmetro do folículo dominante ovulatório ( $10,02 \pm 0,16$  mm) quando comparado aos animais que não apresentaram sinais de estro ( $7,20 \pm 0,19$  mm), o que se justificaria, por um possível aumento na concentração sanguínea de estrógeno, como também observado por Atkins et al., (2010) e Roelofs et al., (2010). Sá Filho et al., (2009) observaram que folículos ovulatórios maiores no dia 10 do protocolo de IATF, estão associados a concentrações elevadas de estradiol e, conseqüentemente, uma alta incidência de expressão do estro. Assim também Ferraz et al., (2017) observaram ao trabalhar com vacas da raça Nelore que a expressão do estro está diretamente relacionado com o diâmetro do folículo ovulatório.

Tabela 1 – Diâmetro do folículo ovulatório em função da expressão do estro em receptoras da raça Nelore no pós parto.

	Expressão do estro		Valor de P
	Sim	Não	
Número de animais	n=292	n=117	
Diâmetro do folículo ovulatório (mm) (M $\pm$ EP)	10,02 $\pm$ 0,16	7,20 $\pm$ 0,19	0,001

Foi possível observar que os animais que apresentaram um diâmetro maior do folículo ovulatório no D10 do protocolo de sincronização, também possuíam um diâmetro maior do corpo lúteo sete dias após a ovulação (Tabela 2). Macmillan et al., (2003) mostraram que folículos dominantes menores apresentam um menor número de células da granulosa e um reduzido número de receptores para LH (hormônio luteinizante) nessas células. Nesses casos, a ovulação induzida promoverá o desenvolvimento de um corpo lúteo menor, com menor capacidade de secretar progesterona.

Macnatty et al., (1979) sugeriram que o desenvolvimento de um corpo lúteo fisiológico, depende do folículo pré-ovulatório apresentar um certo número de células da granulosa, um apropriado número de receptores para o LH nas células da teca e granulosa, com competência de sintetizar quantidades suficientes de progesterona após luteinização. O maior diâmetro do folículo ovulatório aparenta promover a formação de um corpo lúteo de maior diâmetro e com elevada capacidade em continuar a gestação por produzir elevados níveis de P4 (Lonergan et al., 2013)

Com relação ao GnRH, não houve efeito significativo ( $P>0,05$ ) da aplicação deste hormônio e nem da interação entre a expressão do estro x GNRH ( $P>0,05$ ) no diâmetro do corpo lúteo no momento da transferência do embrião (Tabela 1). O GnRH tem sido muito utilizado em programas de IATF e com resultados positivos na taxa de gestação, principalmente nos animais que não apresentaram sinais de estro (Hill et al., 2016; Oliveira et al., 2017) no final do protocolo de IATF, e estes resultados podem estar associados com o tempo de ovulação e não com o diâmetro do corpo lúteo formado.

Tabela 2 – Diâmetro (mm) do corpo lúteo em função da expressão do estro e da aplicação de GnRH em receptoras da raça Nelore no pós parto.

Variável	Efeitos Principais		Valor de P
Diâmetro do corpo Lúteo (mm) (M±EP)	Expressão de cio		0,0004
	Sim	Não	
	n=335	n=127	
	18,46 ± 0,14	16,89 ± 0,36	
	GnRH		0,9442
	Sim	Não	
	n=222	n=221	
	17,69 ± 0,30	17,66 ± 0,31	

Os animais que expressaram sinais de estro mostraram um aumento ( $P < 0,05$ ) na proporção de animais que apresentaram CL (77,86%) no momento da TETF, quando comparado aquelas que não apresentaram sinal de estro (61,22%) (Tabela 3), isto comprova que um número reduzido de animais com folículo menor no D10 do protocolo não chegaram a ovular. Veras et al., (2017) ao trabalharem com 203 vacas primíparas e multíparas observaram que a capacidade ovulatória do folículo em um protocolo hormonal de IATF, depende do tamanho folicular quando o indutor da ovulação é aplicado, sendo essa uma das causas da grande variação de resposta aos protocolos hormonais.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 03, a aplicação do GnRH não afetou ( $P > 0,05$ ) a taxa de ovulação de receptoras de embriões bovinos, isto, independente do tamanho do folículo e ou expressão do estro, sendo assim podemos inferir que a ovulação dos folículos menores está mais relacionado com o seu tamanho, do que a presença de GnRH. Moreira et al., (2000) afirmaram que folículos menores que 9,0 mm ainda não respondem ao LH, e também Gimenes et al., (2008), verificaram que a capacidade ovulatória é adquirida quando o folículo dominante atinge entre 7,0 a 8,4 mm de diâmetro em novilhas *Bos indicus* e

aumenta significativamente quando o folículo alcança 8,5 mm de diâmetro, o que justificaria os resultados obtidos neste experimento.

Tabela 3 – Proporção de receptoras que apresentaram corpo lúteo (Taxa de aproveitamento) no momento da transferência dos embriões em função expressão do estro e da aplicação do GnRH em receptoras da raça Nelore no pós parto.

Variável		Efeitos Principais		Valor de P
		Expressão de cio		
Taxa de aproveitamento (%) (M±EP)	de	Sim	Não	0,001
		n=335	n=127	
		76,86 ± 2,12	61,22 ± 2,46	
		GnRH		
		Sim	Não	0,1044
		n=222	n=221	
		72.83 ± 3.00	66.25 ± 2.73	

Quanto a taxa de taxa de concepção, podemos verificar na Tabela 04 que não houve efeito ( $P>0,05$ ) da expressão do cio e ou da aplicação do GnRH nesta variável, sendo assim, fica evidente que, independente do diâmetro do folículo ovulatório e do CL formado posteriormente, a taxa de concepção parece não ser alterada. Apesar de administração do GnRH no momento da IATF ser uma opção para aumentar a taxa de concepção em vacas de corte (Hill et al., 2016; Oliveira et al., 2017), sobretudo em vacas que não apresentam estro 48 horas após a retirada do dispositivo de P4 (Sá Filho et al., 2011), na transferência de embriões esse efeito não foi observado, pois o tempo de ovulação não é tão determinante na taxa de concepção em bovinos.

Vasconcelos et al., (2001) e Baruselli et al. (2003) afirmaram que CL com menor tamanho reduzem a taxa de gestação em receptoras bovinas. Todavia, Cavalieri et al. (2019) estudando vacas receptoras da raça Nelore no pós-parto observaram, após ranquear o tamanho do corpo lúteo em 04 níveis, que a taxa de

concepção não sofreu alteração. Desta forma, podemos afirmar que, o CL formado a partir de folículos pequenos produz progesterona o suficiente para sustentar a gestação após a transferência de um embrião produzido in vitro.

Tabela 4 – Taxa de concepção em função da expressão do estro e da aplicação do GNRH em receptoras da raça Nelore no pós parto.

Variável		Efeitos Principais		Valor de P
		Expressão de cio		
		Sim	Não	
Taxa de concepção M±EP	de (%)	n=230	n=101	0,6810
		36,69 ± 4,89	34,31 ± 4,78	
		GnRH		0,6871
		Sim	Não	
		n=166	n=148	
		36,66 ± 2,30	34,34 ± 3,01	

A aplicação de novas tecnologias e de biotécnicas da reprodução mais intensivas possibilita aumentar a produtividade na bovinocultura de corte, sendo elas associadas ou não. No entanto, há de se considerar que a prática da pecuária causa impactos significativos ao meio ambiente, por via da depleção e poluição da água, perda da biodiversidade e intensificação das mudanças climáticas globais (Natel et al., 2016), que são proporcionais a sua intensificação. Azevedo e Pasquis (2007) debateram, por meio de um exercício empírico, aspectos associados à pecuária e agricultura no estado do Mato Grosso e afirmaram que os melhores indicadores socioeconômicos foram encontrados em municípios com os piores indicadores ambientais (desmatamento/queimadas).

Por isso, várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas objetivando a otimização da pecuária nacional de forma sustentável, desta maneira, os resultados desta pesquisa mostram que, apesar o GnRH não apresentar diferença no aumento da expressão do cio, no diâmetro do corpo lúteo e na taxa de concepção, a expressão

do cio dos animais apresenta melhoria no aproveitamento das receptoras, o que apresenta mérito sob o ponto de vista da sustentabilidade ambiental, visto que, permite a produção de maior número de descendentes de melhor qualidade genética que, sabidamente, levam a uma maior produção de carne por hectare.

## **CONCLUSÃO**

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que a expressão do estro elevou o diâmetro do folículo ovulatório, diâmetro do CL e taxa de aproveitamento, não existindo efeito da expressão do estro na taxa de concepção em receptoras da raça Nelore, todavia, não foi observado efeito do GnRH em nenhum dos parâmetros analisados.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES - ABIEC. Perfil da Pecuária no Brasil. Relatório Anual, 2017, São Paulo: ABIEC, 2018. 48 p

ATKINS, J.A.; SMITH, M.F.; WELLS, K.J.; GEARY, T.W. et al. Factors affecting preovulatory follicle diameter and ovulation rate after gonadotropin-releasing hormone in postpartum beef cows. Part I: Cycling cows. **Journal Animal Science**, v.88, p.2300–2310, 2010.

AZEVEDO, A.A.; PASQUIS, R. Da abundância do agronegócio à Caixa de Pandora ambiental: a retórica do desenvolvimento (in) sustentável do Mato Grosso (Brasil). **Interações (Campo Grande)**, Campo Grande, v.8, n.2, p.183-191, 2007.

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T. et al. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo “Ovsynch” para inovulação em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.40, n.1, p.96-106, 2003.

BLONDIN, P. Status of embryo production in the world. **Animal Reproduction**. v. 12, n.3, p. 356-358, 2015.

BORLACHENCO, N.G.C.; GONÇALVES, A.B. Expansão agrícola: elaboração de indicadores de sustentabilidade nas cadeias produtivas de Mato Grosso do Sul. **Interações**, v. 18, n. 1, p. 119-128, 2017.

DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction in Domestic Animals**, v.43, n.1, p.260-267, 2008.

FERRAZ, P.A.; LOIOLA, M.V.G.; RODRIGUES, A.S.S. et al. The effect of the intensity of estrus expression on the follicular diameter and fertility of Nelore cows managed under a FTAI program. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, e37643, 2017.

GOTTSCHALL, C.S.; MARQUES, P.R.; ALMEIDA, M.R.A. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**. v.164, n.1, p.43-48, 2008.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.852-858, 2008.

HILL, S.L.; GRIEGER, K.C.; OLSON, J.R. et al. Using estrus detection patches to optimally time insemination improved pregnancy risk in suckled beef cows enrolled in a fixed-time artificial insemination program. **Journal Animal Science**. v.94, n.1, p.3703-3710, 2016.

LONERGAN, P.; O'HARA, L.; FORDE, N. Papel da progesterona do diestro na função endometrial e desenvolvimento do concepto em bovinos. **Animal Reproduction**, v.10, n. 3, p. 119-123, 2013.

LIMA, I.M.T.; SOUZA A.L. Desenvolvimento e Sobrevivência de Embriões no Período de Pré implantação: Enfoque em Ruminante. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v.33, n.1, p.194-202, 2009.

LIMA, J. S. **Reprodução assistida na bovinocultura de corte**. 2017. Maranhão, Monografia de conclusão de curso – Universidade Federal do Maranhão.

LUTTGENAU, J.; ULBRICH, S.E.; BEINDORFF, N. et al. Plasma progesterone concentrations in the midluteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. **Theriogenology**. v.125, n.1, p.20-25, 2011.

MACMILLAN, K.L; SEGWAGWE, B.V.; PINO, C.S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p.327-344, 2003.

MCNATTY, K.P.; SMITH, D.M.; MAKRIS, A. et al. The microenvironment of the human antral follicle: interrelationships among the steroid levels in antral fluid, the population of granulosa cells, and the status of the oocyte *in vivo* and *in vitro*. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.49, n.6, p.851-860, 1979.

MANN, G.E.; GREEN, M.P.; SINCLAIR, K.D. et al. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**. v.79, n.1, p.71-79, 2003.

MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C. et al. Pregnancy rates to a timed insemination in lacting dairy cows pre-synchronized and treated with bovine somatotropin: Cyclic versus anestrus cows. **Journal of Dairy Science**. v. 83, p. 1-134, 2000.

NATEL, A.S.; FAUSTO, D.A.; ARAGAO, T.R. et al. Otimização da pecuária nacional de forma sustentável. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.17, n.3, p.529-544, 2016.

OLIVEIRA, L.S.R.; SOUZA A.L.B.; KOZICKI L.E. et al. Potencial da deslorelina como agente indutor da ovulação em vacas primíparas *Bos taurus indicus* na inseminação artificial em tempo fixo. **Veterinária e Zootecnia**. v.24, n.1, p. 363-372, 2017.

PERRY, G.A.; PERRY, B.L. GnRH treatment at artificial insemination in beef cattle fails to increase plasma progesterone concentrations or pregnancy rates. **Theriogenology**. v.71, n.1, p.775-779, 2009.

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R.H.F. et al. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. **Theriogenology**, v. 74, p. 327-344, 2010.

SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P.; FERREIRA, R.M. et al. Importance of estrus on pregnancy submitted to estradiol/progesterone- based timed insemination

protocols. **Theriogenology**, v. 76, p.455-463, 2011.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**. v.72, n.1, p.210-218, 2009.

VARAGO, F.C.; MENDONÇA, L.F.; LAGARES, M.A. Produção *in vitro* de embriões bovinos: estado da arte e perspectiva de uma técnica em constante evolução. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.32, n.1, p.100-109, 2008.

VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N. et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**. v.56, n.1, p. 307-314, 2001.

VERAS, G.A.; SOUTO, P.F.M.P.; FERREIRA-SILVA, J.C. et al. Efeito de diferentes concentrações de progesterona em dispositivos vaginais sobre a dinâmica folicular de novilhas holandesas (*Bos taurus*) submetidas a IATF. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.11, p. 203-209, 2017.

## 5. NORMAS DA REVISTA

# Archives of Veterinary Science

### APRESENTAÇÃO DOS ARTIGOS

**\*Para agilizar a tramitação e publicação de seu artigo, recomendamos fortemente que as normas sejam obedecidas, especialmente para as referências\***

**1. Digitação:** O artigo com no máximo vinte e cinco páginas deverá ser digitado em folha com tamanho A4 210 x 297 mm, com margens laterais direita, esquerda, superior e inferior de 2,5 cm.

As páginas deverão ser numeradas de forma progressiva no canto superior direito. Deverá ser utilizado fonte arial 12 em espaço duplo; em uma coluna.

Deverá ser inserido o número de linhas de forma contínua ao longo de todo o texto.

Tabelas e Figuras com legendas serão inseridas diretamente no texto e também em folhas separadas (documentos suplementares).

**2. Identificação dos autores e instituições:** Todos os dados referentes a autores devem ser inseridos **exclusivamente na seção METADADOS** no momento da submissão online, *atendendo caixa alta e baixa*. A ordem do nome dos autores não poderá ser alterada posteriormente. É imprescindível incluir a afiliação de todos os autores nesta seção.

Não deve haver nenhuma identificação dos autores no corpo do artigo enviado para a revista.

Os autores devem inclusive remover a identificação de autoria do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista.

**3. Tabelas:** Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte superior da tabela em caixa baixa (espaço simples) com ponto final.

O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título. (Ex.: Tabela 1 – Título.). As abreviações devem ser descritas em notas no rodapé da tabela. Estas serão referenciadas por números sobrescritos (1,2,3). Quando couber, os cabeçalhos das colunas deverão possuir as unidades de medida. Tanto o título quanto as notas de rodapé devem fazer parte da tabela, inseridos em "linhas de tabela".

**4. Figuras:** Devem ser numeradas em algarismo arábico seguido de hífen. O título será inserido na parte inferior da figura em caixa baixa (espaço simples) com ponto final. O recuo da segunda linha deverá ocorrer sob a primeira letra do título (Ex.: Figura 1 – Título). As designações das variáveis X e Y devem ter iniciais maiúsculas e unidades entre parênteses.

### NORMAS EDITORIAIS

**Artigo completo** - Deverá ser inédito, escrito em idioma português (nomenclatura oficial) ou em inglês.

O artigo científico deverá conter os seguintes tópicos:

- Título (Português e Inglês);
- Resumo;
- Palavras-chave;
- Abstract;
- Key words;
- Introdução;
- Material e Métodos;
- Resultados;
- Discussão;
- Conclusão;
- Agradecimento(s) (quando houver);
- Nota informando aprovação por Comitê de Ética (quando houver);
- Referências.

\*Os itens resultados e discussão podem ser escrito em conjunto.

**Artigo de Revisão - *Somente serão avaliados se enviados a convite do editor.***

Os artigos de revisão deverão ser digitados seguindo a mesma norma do artigo científico e conter os seguintes tópicos:

- Título (Português e Inglês);
- Resumo;
- Palavras-chave;
- Abstract;
- Key words;
- Introdução;
- Desenvolvimento;
- Conclusão;
- Agradecimento(s) (quando houver);
- Referências.

**A publicação de artigos de revisão fica condicionada à relevância do tema, mérito científico dos autores e disponibilidade da Revista para publicação de artigos de Revisão.**

**Não são publicados relatos de casos.**

**ESTRUTURA DO ARTIGO**

**TÍTULO** - em português, centralizado na página, e com letras maiúsculas. Logo abaixo, título em inglês, entre parêntesis e centralizado na página, com letras minúsculas e itálicas. Não deve ser precedido do termo título.

**RESUMO** - no máximo 1800 caracteres incluindo os espaços, em língua portuguesa. As informações devem ser precisas e sumarizar objetivos, material e métodos, resultados e conclusões. O texto deve ser justificado e digitado em parágrafo único e espaço duplo. Deve ser precedido do termo "Resumo" em caixa alta e negrito.

**PALAVRAS-CHAVE** – inseridas abaixo do resumo. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título, e alinhado a esquerda. Não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo "Palavras-chave" em caixa baixa e negrito.

**ABSTRACT** -deve ser redigido em inglês, refletindo fielmente o resumo e com no máximo 1800 caracteres. O texto deve ser justificado e digitado em espaço **duplo**, em parágrafo único. Deve ser precedido do termo "Abstract" em caixa alta e negrito.

**KEY WORDS** - inseridas abaixo do abstract. Máximo de cinco palavras em letras minúsculas, separadas por ponto-e-vírgula, em ordem alfabética, retiradas exclusivamente do artigo, não devem fazer parte do título em inglês, e alinhado a esquerda. Não precisam ser traduções exatas das palavras-chave e não deve conter ponto final. Deve ser precedido do termo "Key words" em caixa baixa e negrito.

**INTRODUÇÃO** – abrange também uma breve revisão de literatura e, ao final, os objetivos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Introdução" (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**MATERIAL E MÉTODOS** - o autor deverá ser preciso na descrição de novas metodologias e adaptações realizadas nas metodologias já consagradas na experimentação animal. Fornecer referência específica original para todos os procedimentos utilizados. Não usar nomes comerciais de produtos. O texto deverá iniciar sob a primeira letra do termo "Material e Métodos" (escrito em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

Podem ser utilizados subitens, sendo os mesmo grafados em itálico.

**RESULTADOS (O item Resultados e o item Discussão podem ser apresentados juntos, na forma RESULTADOS e DISCUSSÃO, ou em itens separados)**

o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Resultados" (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Símbolos e unidades devem ser listados conforme os

exemplos: Usar **36%**, e não 36 % (não usar espaço entre o **no** e %); Usar **88 kg**, e não 88Kg (com espaço entre o **no** e kg, que deve vir em minúsculo); Usar **42 mL**, e não 42 ml (litro deve vir em **L maiúsculo**, conforme padronização internacional); Usar (**P<0,05**) e não (p < 0,05); Usar **r<sup>2</sup> = 0,89** e não r<sup>2</sup>=0,89; Nas tabelas inserir o valor da probabilidade como "valor de P"; Nas tabelas e texto utilizar média ± desvio padrão (15,0 ± 0,5). Devem ser evitadas abreviações não-consagradas, como por exemplo: "o T3 foi maior que o T4, que não diferiu do T5 e do T6". Este tipo de redação é muito cômodo para o autor, mas é de difícil compreensão para o leitor. Escreva os resultados e apresente suporte com dados. Não seja redundante incluindo os mesmos dados ou resultados em tabelas ou figuras.

**DISCUSSÃO** - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Discussão" (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda. Apresente a sua interpretação dos seus dados. Mostre a relação entre fatos ou generalizações reveladas pelos seus resultados. Aponte exceções ou aspectos ainda não resolvidos. Mostre como os seus resultados ou interpretações concordam com trabalhos previamente publicados ou discordam deles, mas apresente apenas trabalhos originais, evitando citações de terceiros. Discuta os aspectos teóricos e/ou práticos do seu trabalho. Pequenas especulações podem ser interessantes, porém devem manter relação factual com os seus resultados. Afirmações tais como: "Atualmente nós estamos tentando resolver este problema..." não são aceitas. Referências a "dados não publicados" não são aceitas. Conclua sua discussão com uma curta afirmação sobre a significância dos seus resultados.

**CONCLUSÕES** - preferencialmente redigir a conclusão em parágrafo único, baseada nos objetivos. Devem se apresentar de forma clara e sem abreviações. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Conclusão" (escrita em caixa alta e negrito), com recuo da primeira linha do parágrafo a 1,0 cm da margem esquerda.

**AGRADECIMENTOS** - os agradecimentos pelo apoio à pesquisa serão incluídos nesta seção. Seja breve nos seus agradecimentos. Não deve haver agradecimento a autores do trabalho. O texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Agradecimento" (escrita em caixa baixa).

**NOTAS INFORMATIVAS** - quando for o caso, antes das referências, deverá ser incluído parágrafo com informações e número de protocolo de aprovação da pesquisa pela Comissão de Ética e ou Biossegurança. (quando a Comissão de Ética pertencer à própria instituição onde a pesquisa foi realizada, deverá constar apenas o número do protocolo).

**REFERÊNCIAS** - o texto deverá iniciar sob a primeira letra da palavra "Referências" (escrita em caixa alta e negrito). Omitir a palavra bibliográficas. Alinhada somente à esquerda. Usar como base as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT (NBR 10520 (NB 896) - 08/2002). Devem ser redigidas em página separada e ordenadas alfabeticamente pelo(s) sobrenome(s) do(s) autor(es). Os destaques deverão ser em NEGRITO e os nomes científicos, em ITÁLICO. NÃO ABREVIAR O TÍTULO DOS PERIÓDICOS. Indica-se o(s) autor(es) com entrada pelo último sobrenome seguido do(s) prenome(s) abreviado (s), exceto para nomes de origem espanhola, em que entram os dois últimos sobrenomes. Mencionam-se os autores separados por ponto e vírgula. Digitá-las em espaço simples e formatá-las segundo as seguintes instruções: no menu FORMATAR, escolha a opção PARÁGRAFO... ESPAÇAMENTO...ANTES...6 pts.**Exemplo de como referenciar:**

#### ARTIGOS DE PERIÓDICOS:

(citar os 3 primeiros autores seguido de "et al.")

JOCHLE, W.; LAMOND, D.R.; ANDERSEN, A.C. et al. Mestranol as an abortifacient in the bitch. *Theriogenology*, v.4, n.1, p.1-9, 2019.

**Livros e capítulos de livro.** Os elementos essenciais são: autor(es), título e subtítulo (se houver), seguidos da expressão "In:", e da referência completa como um todo. No final da referência, deve-se informar a paginação. Quando a editora não é identificada, deve-se indicar a expressão *sine nomine*, abreviada, entre colchetes [s.n.]. Quando o editor e local não puderem ser indicados na publicação, utilizam-se ambas as expressões, abreviadas, e entre colchetes [S.l.: s.n.].

#### REFERÊNCIA DE LIVROS (*in totum*):

BICHARD, S.J.; SHERDING, R.G. **Small animal practice**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1997. 1467 p.

#### REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS: (Capítulo com autoria)

SMITH, M. Anestrus, pseudopregnancy and cystic follicles. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. 2.ed. Philadelphia : W.B. Saunders, 1986, Cap.x, p.585-586.

#### REFERÊNCIA DE PARTES DE LIVROS: (Capítulo sem autoria)

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In \_\_\_\_\_. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Willey, 1977. Cap.4., p.72-90.

**OBRAS DE RESPONSABILIDADE DE UMA ENTIDADE COLETIVA:** A entidade é tida como autora e deve ser escrita por extenso, acompanhada por sua respectiva abreviatura. No texto, é citada somente a abreviatura

correspondente. Quando a editora é a mesma instituição responsável pela autoria e já tiver sido mencionada, não é indicada.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC International, 1995. 1025p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **Sistema de análises estatísticas e genéticas - SAEG**. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p.

#### REFERÊNCIA DE TESE/DISSERTAÇÃO/MONOGRAFIA:

BACILA, M. **Contribuição ao estudo do metabolismo glicídico em eritrócitos de animais domésticos**. 1989. Curitiba, 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.

#### REFERÊNCIA DE PUBLICAÇÕES EM CONGRESSOS:

KOZICKI, L.E.; SHIBATA, F.K. Perfil de progesterona em vacas leiteiras no período do puerpério, determinado pelo radioimunoensaio (RIA). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, XXIV., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiana de Veterinária, 1996, p. 106-107.

RESTLE, J.; SOUZA, E.V.T.; NUCCI, E.P.D. et al. Performance of cattle and buffalo fed with different sources of roughage. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., 1994, São Paulo. **Proceedings...** São Paulo: Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, 1994. p.301-303.

**REFERÊNCIA DE ARTIGOS DE PERIÓDICOS ELETRÔNICOS:** Quando se tratar de obras consultadas *on-line*, são essenciais as informações sobre o endereço eletrônico, apresentado entre os sinais < >, precedido da expressão "Disponível em: xx/xx/xxxx" e a data de acesso do documento, precedida da expressão "Acesso em: xx/xx/xxxx."

PRADA, F.; MENDONÇA Jr., C. X.; CARCIOFI, A. C. [1998]. Concentração de cobre e molibdênio em algumas plantas forrageiras do Estado do Mato Grosso do Sul. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.6, 1998. Disponível em: <http://www.scielo.br/> Acesso em: 05/09/2000.

MÜELLER, Suzana Pinheiro Machado. A comunicação científica e o movimento de acesso livre ao conhecimento. *Ciência da Informação*, Brasília, v. 35, n. 2, 2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-19652006000200004&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em: 13/05/2007.

RAFLAR, P.G.; BLAS, C. [2002]. **Digestión de la soja integral em ruminantes**. Disponível em: [http://www.ussoymeal.org/ruminant\\_s.pdf](http://www.ussoymeal.org/ruminant_s.pdf). Acesso em: 12/10/2002.

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. [1996]. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA URPe, 4., 1996, Recife. **Anais eletrônico...** Recife: Universidade Federal do Pernambuco, 1996. Disponível em: <http://www.propesq.ufpe.br/anais/anais.htm> Acesso em: 21/01/1997.

**CITAÇÃO DE TRABALHOS PUBLICADOS EM CD ROM:** Na citação de material bibliográfico publicado em CD ROM, o autor deve proceder como o exemplo abaixo:

EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M.; OLIVEIRA, M.P. Avaliação de cultivares de *Panicum maximum* em pastejo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: Gmosis, 1999, 17par. CD-ROM. Forragicultura. Avaliação com animais. FOR-020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Bases de dados em Ciência e Tecnologia**. Brasília, n. 1, 1996. CD-ROM.

**E.mail** Autor, < e-mail do autor. "Assunto", Data de postagem, e-mail pessoal, (data da leitura)

**Web Site** Autor [se conhecido], "Título"(título principal, se aplicável), última data da revisão [se conhecida], < URL (data que foi acessado)

**FTP** Autor [se conhecido] "Título do documento"(Data da publicação) [se disponível], Endereço FTP (data que foi acessado)

**CITAÇÕES NO TEXTO:** As citações no texto deverão ser feitas em caixa baixa. Quando se tratar de dois autores, ambos devem ser citados, seguido apenas do ano da publicação; três ou mais autores, citar o sobrenome do primeiro autor seguido de et al. obedecendo aos exemplos abaixo:

Silva e Oliveira (2017)

Schimmidt et al. (2019)

(Teotonio et al., 2018)

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Com base nos resultados obtidos conclui-se que a busca pela maior produção de alimentos sem comprometer o meio ambiente é uma necessidade mundial em vários setores, dentre eles, na pecuária de corte.

As biotécnicas da reprodução são ferramentas que permitem intensificar esta produção, contudo, inferências sobre o emprego destas técnicas relacionadas à questão ambiental são escassas.

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o GnRh não apresentou diferença, em receptoras da raça nelore, quanto ao diâmetro do CL, taxa de aproveitamento e taxa de concepção, mas observou-se melhor aproveitamento das receptoras que apresentaram o estro, em relação as que não apresentaram.

É considerável que mais trabalhos sejam desenvolvidos para avaliar estas biotécnicas sob o viés da sustentabilidade ambiental e, inclusive, econômica.



Centro Universitário Unicesumar  
Diretoria de Pesquisa  
CEUA – Comissão Ética no Uso de Animais

## PARECER

USO EXCLUSIVO CEUA			
PROTOCOLO Nº	014/2019	PARECER	014.2/2019
PROTOCOLADO EM:	30/10/2019	ESPÉCIE ANIMAL:	<i>Bos taurus</i>
SEXO:	FÊMEA	IDADE APROXIMADA:	
QUANTIDADE:	400	PESO APROXIMADO:	450

<b>I – IDENTIFICAÇÃO</b>	
( ) PROJETO DE ENSINO    (X) PROJETO DE PESQUISA    ( ) PROJETO DE EXTENSÃO    ( ) PLANO DE AULA	
<b>II – PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>	
Prof. Fábio Luiz Bin Cavalieri	
<b>III – INSTITUIÇÃO/DEPARTAMENTO</b>	
UNICESUMAR/Curso de Medicina Veterinária e Programa de Pós Graduação em Tecnologias Limpas	
<b>IV – TÍTULO DO PROJETO</b>	
UTILIZAÇÃO DE GnRH NA SINCRONIZAÇÃO DE RECEPTORAS BOVINAS PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM TEMPO FIXO	
<b>V – CONSIDERAÇÕES DO PARECERISTA</b>	
Ok! Ajustes foram realizados!!	
<b>VI – SITUAÇÃO</b>	
(X) APROVADO ( ) PENDENTE ( ) REPROVADO	
De acordo,	
 <b>Prof. Marcelo Bernucci</b> Coordenador CEUA	Data: 19/12/2019