PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE MINAS GERAIS
***CAMPUS* DE POÇOS DE CALDAS**
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

SUPEROVULAÇÃO PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM *BOS TAURUS INDICUS*

EWERTON APARECIDO HENRIQUE

Poços de Caldas
2007

EWERTON APARECIDO HENRIQUE

SUPEROVULAÇÃO PARA TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM *BOS TAURUS INDICUS*

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado à Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, *campus* de Poços de Caldas, como requisito parcial à obtenção do grau de MÉDICO VETERINÁRIO.

Poços de Caldas

2007

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nós, professores abaixo assinados, declaramos que o(a) aluno(a) **EWERTON APARECIDO HENRIQUE** realizou as correções do Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado no dia 05 / 12 / 07 , de acordo com as orientações da Banca Examinadora.

_____

Prof. Dr. Carlos Henrique Cabral Viana

PRESIDENTE

_____

Diego Marcondes Guerra

MEMBRO

_____

Estér Siqueira Caixeta

MEMBRO

_____

Prof^{a}. M.Sc. Margaret Yuriko Saiki

SUPERVISORA

Poços de Caldas

Novembro – 2007

DECLARAÇÃO

Eu, Ewerton Aparecido Henrique, aluno matriculado nas disciplinas de TCC e/ou Estágio Supervisionado IV do Curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, *campus* Poços de Caldas, declaro que a monografia que tem como título Superovulação para Transferência de Embriões em *Bos taurus indicus*, é um trabalho de minha autoria.

Poços de Caldas, 16 de novembro de 2007.

_____

Assinatura do aluno

DEDICATÓRIA

A meus pais, minha irmã, minha namorada, meus avós, meus tios e primos, professores, os amigos da IX turma de Medicina Veterinária da PUC com quem convivi durante todos esses anos de estudante universitário e todos que me deram apoio nessa ótima e complicada trajetória, principalmente meu orientador e amigo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter conseguido chegar ao fim desse longo período de estudante universitário, e ter cumprido todos os objetivos dessa trajetória. Agradeço muito meus pais Benedito e Maria, que sem eles eu não estaria realizando este trabalho, ao apoio de minha irmã Érica e de minha namorada Livia, ao meu orientador Cabral pela paciência que teve comigo e pelo grande aprendizado que me passou não só neste trabalho, mas também nas outras matérias.

Agradeço a todos os professores que me deixaram ensinamentos eternos, Adauto, Andréa, Bió, Cabral, Célia, Claudinha, Cristiane, Domingos, Eneiva, Fabio, Fernanda, Flavio Alvin, Flavio Elston, Lílian, Henrique, Luciano, Marcelo Ismar, Marcelo Landim, Margaret, Maria Adriana, Malê, Maria Tereza, Moacir, Patrícia, Rafael, Raquel e Thales. Todos os dias que estamos tentando resolver um caso clínico é preciso lembrar um pouco de cada professor, porém, é impossível lembrar tudo o que nos foi passado, mas agradeço pelos ensinamentos de todos, pois quando recorremos a matéria que nos foi passada vemos que ensinaram tudo da melhor maneira possível e com muito boa vontade e então sentimos confiança para poder passar para frente o que aprendemos.

Agradeço os Médicos Veterinários que foram meus professores no campo Gilberto, Denilson e Tiago. Com eles aprendi a conciliar a prática com a teoria para conseguir resolver os casos clínicos e aprender a realidade do médico veterinário trabalhando no campo.

Agradeço aos funcionários da PUC Minas campus Poços de Caldas que sempre nos deram apoio em tudo que precisamos realizar no campus.

Agradeço também a PUC Minas, que tenho orgulho em dizer que fui estudante universitário dessa instituição pela seriedade e respeito que encontrei nessa universidade.

Agradeço também a Clara do diretório acadêmico de medicina veterinária pela paciência e pelo auxílio dado na formatação.

"A morte do homem começa no instante que ele desiste de aprender."

Albino Teixeira

RESUMO

AUTOR - Ewerton Aparecido Henrique
ORIENTADOR – Prof. Dr. Carlos Henrique Cabral Viana

Os animais Zebuinos (*Bos taurus indicus*), são a grande maioria em nosso país. Isso pela grande resistência aos parasitos e às altas temperaturas. A reprodução de animais tão utilizados como os Zebuinos, merece uma atenção especial, pois já é visto que existe diferenças nos aspectos fisiológicos entre os *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, sendo assim não se pode utilizar de mesma técnica reprodutiva para animais que são considerados fisiológicamente diferentes. As biotecnologias da reprodução são utilizadas para aprimorar animais que são considerados geneticamente superiores, sendo que a Transferência de Embriões (TE) é uma das técnicas mais utilizadas para esse procedimento. Só que para se ter sucesso na TE é preciso aumentar o número de ovulações para que se possa, a cada colheita, conseguir recuperar o máximo possível de embriões viáveis. A Superovulação (SPO) é realizada de várias maneiras, sendo que a dose de hormônio, o hormônio utilizado, o horário de aplicação, a onda de crescimento folicular, a sincronização do ciclo estral e outros fatores, podem ser manipulados de forma diferente por diversos autores que realizam experimentos práticos, sendo que cada um tem sua conclusão sobre a maneira de realizar a SPO. Essa revisão de literatura mostra algumas diferenças fisilógicas na reprodução entre o gênero *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus*, e as técnicas mais utilizadas atualmente por alguns autores para se conseguir bons resultados na SPO dos animais *Bos taurus indicus*. Como a fisiologia reprodutiva dos *Bos taurus indicus* ainda é considerada pouco estudada, existem algumas contradições entre autores que serão abordadas, concentrando-se no número de ondas foliculares desses

animais. No passado foi relatado que no gênero *Bos taurus taurus* há um maior número de folículos por ovário em relação ao *Bos taurus indicus*. No entanto, recentemente outros autores relataram o contrário, o que foi justificado em função da maior concentração de IGF. Em alguns tópicos são também abordados assuntos que não há contradição, pois já é bem evidenciado que o tamanho do folículo dominante (FD) e do corpo lúteo (CL) dos *Bos taurus indicus* são menores e também o nível de progesterona (P4) e estrógeno (E2) apresentam-se mais baixos quando comparados aos do *Bos taurus taurus*. Nas doadoras o que se espera da SPO é um número elevado de embriões viáveis que se possa com esses conseguir uma gestação.

Palavras-chave - *Bos taurus indicus*, superovulação, biotecnologia.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Gráfico 1 Representação esquemática das variações, na concentração dos principais hormônios que regulam o cicio estral em bovinos 22

Gráfico 2 O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica folicular de uma vaca Gir com duas ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral. As linhas contínuas representam folículos dominantes, e linhas pontilhadas folículos subordinados. Os símbolos abertos representam folículos da primeira onda folicular, e os símbolos fechados, folículos da segunda onda folicular 26

Gráfico 3 O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica de crescimento folicular de vacas Gir, com três ondas foliculares durante o ciclo estral. As linhas representam a primeira, segunda e terceira onda folicular 26

Gráfico 4 O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica folicular de vacas Gir com quatro ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral. As linhas representam primeira, segunda, terceira e quarta onda de crescimento folicular....27

Gráfico 5 O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica de crescimento folicular de vacas Gir com cinco ondas de crescimento folicular. As linhas representam a primeira, segunda, terceira, quarta e quinta onda de crescimento folicular 27

Quadro 1 Hormônios, o órgão secretor e a função relacionados à reprodução de bovinos.....19

Quadro 2 Protocolo utilizado para SPO utilizando o cio natural.....34

Quadro 3 Protocolo de SO utilizando P4, E2 e FSH.....37

Quadro 4 Resposta superovulatória em vacas superovuladas entre os dias 8 e 12 após o cio (tradicional) e vacas tratadas com progestágeno + BE.....37

Quadro 5 Esquema prático de SPO em vacas Nelore utilizado testando 1 ou 2 IAs.....41

Quadro 6 Esquema prático de SPO para doadoras taurinas recomendado pela Tecnopec 42

Quadro 7 Esquema prático de SPO para doadoras zebuinas recomendado pela Tecnopec 43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Participação da Indústria de Carnes na Economia Brasileira e Mundial - Cadeia Produtiva da Carne. Rebanhos mundiais de bovinos / milhares de cabeças 15

Tabela 2 Participação da Indústria de Carnes na Economia Brasileira e Mundial - Cadeia Produtiva da Carne. Produção de carne bovina / mil toneladas 15

Tabela 3 Características do estro avaliadas por radiotelemetria e intervalos estro-ovulação em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus x Bostaurus*). Características Grupos Genéticos.....20

Tabela 4 Ondas foliculares e dias de crescimento, média do tamanho dos folículos e variação do tamanho dos folículos da raça Gir.....29

Tabela 5 Números médios de embriões viáveis, estruturas totais, vacas em estro da raça Gir Leiteiro superovuladas com 300, 400 ou 500 UI de FSH 32

Tabela 6 Resultados na produção de embriões em 1996. FSH / eCG 35

Tabela 7 Resultados de produção de embriões em 1997. FSH / eCG.....36

Tabela 8 Esquema prático de superovulação com FSH 39

LISTA DE ABREVEATURAS E SIGLAS

α	alfa
β	beta
BE	benzoato de estradiol
CIDR	dispositivo intravaginal de progesterona
CL	corpo lúteo
eCG	gonadotrofina coriônica eqüina
E2	estradiol
E- 17 β	estradiol 17 β
FD	folículo dominante
FSH	hormônio folículo estimulante
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	inseminação artificial
IATF	inseminação artificial em tempo fixo
IGF	fator de crescimento semelhante à insulina
IM	intramuscular
LH	hormônio luteinizante
mg	miligramas
ml	mililitro
mm	milímetro
MOET	múltipla ovulação e transferência de embrião
P4	progesterona
PGF2α	progesterona
PMSG	gonadotrofina coriônica da égua prenhe
SPO	superovulação
SC	subcutânea
TE	transferência de embriões
TETF	transferência de embriões em tempo fixo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 14
1.1Objetivo 17

2 FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL 18

3 DINÂMICA FOLICULAR 23

4 SUPEROVULAÇÃO 30
4.1 Superovulação utilizando o cio base 33
4.2 Superovulação utilizando estrógeno e progesterona..... 36

5 DISCUSSÃO 44

6 CONCLUSÃO 48

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 49

1 INTRODUÇÃO

Os bovinos zebuínos têm como característica principal uma saliência muscular no dorso, chamada de cupim ou giba. Na Índia, berço do zebu, os animais são considerados sagrados e selecionados apenas para produção de leite. Lá, existem mais de 50 raças zebuínas. No Brasil, existem 10 raças (Nelore, Nelore Mocha, Gir, Gir Mocha, Guzerá, Sindi, Brahman, Tabapuã, Cangaiam, Indubrasil). O zebu brasileiro é selecionado para produção de carne ou leite, sendo que algumas raças apresentam dupla aptidão (SANTIAGO, 2006).

O Brasil, no século XVIII, possuía um rebanho formado por animais mestiços de pouca produtividade. Na segunda metade do século XIX é que aparecem os primeiros plantéis de zebus puros, formados a partir de animais importados da Índia (LOPEZ & REZENDE, 2001).

Entre 1904 e 1921, foram importadas, da Índia para o Brasil, 5.500 cabeças das raças Nelore, Gir e Guzerá. Nas décadas de 50 e 60, chegaram ao país exemplares das raças zebuínas Sindi e Cangaiam. A partir dessas raças trazidas da Ásia, foram desenvolvidas no Brasil outras duas raças que são o Tabapuã e o Indubrasil. Já o Brahman chegou ao território nacional no ano de 1994, importado dos Estados Unidos (SANTIAGO, 2006).

Atualmente estima-se que o total do efetivo bovino no Brasil seja da ordem de mais de 190 milhões de cabeças, das quais 80% possuem sangue zebuíno. O Brasil tornou-se a segunda pátria do zebu e o principal país na exploração do gado de origem indiana, com finalidades econômicas (LOPEZ & REZENDE, 2001).

O gado *Bos taurus indicus* é predominante no Brasil e também em outras regiões tropicais e subtropicais, devido à grande tolerância aos parasitos e ao estresse causado pelas altas temperaturas (BARROS e NOGUEIRA, 2001).

Nos últimos anos, poucos países tiveram um crescimento tão expressivo no comércio internacional do agronegócio quanto o Brasil (CONTINI, 2006).

A pecuária de corte brasileira, que vinha almejando, desde o início da década de 90, aumento da eficiência produtiva, passou, nos últimos anos, a ter essa demanda exacerbada, especialmente, como resultado das pressões impostas pela globalização da economia. As modificações que a mesma vem sofrendo vão desde o conceito de produção até aquelas relacionadas com a caracterização do produto

final, passando pelo reconhecimento da cadeia produtiva da carne, pela busca da integração dos diferentes segmentos que a compõem e pela integração entre sistemas de produção e a incorporação de tecnologias. O médico veterinário especialista em reprodução animal é o responsável pelo aprimoramento e funcionamento desta cadeia produtiva (SEGUI, 2007).

O Brasil possui o segundo maior rebanho bovino do mundo, perdendo somente para a Índia, em números de animais (tab. 1).

TABELA.1: Participação da Indústria de Carnes na Economia Brasileira e Mundial – Cadeia Produtiva da Carne.

Rebanhos mundiais de bovinos / milhares de cabeças				
Países	2003	2004	2005	2006
Índia	327.250	330.250	332.200	336.900
Brasil	**167.265**	**165.772**	**165.035**	**166.080**
China	134.672	137.818	140.718	143.411
E.U.A	96.888	95.438	97.102	98.800

Fonte: CASTILLO, 2005.

Referindo-se à produção de carne, o Brasil se classifica em segundo lugar no mundo, ficando somente abaixo dos Estados Unidos (tab. 2).

TABELA. 2: Participação da Indústria de Carnes na Economia Brasileira e Mundial – Cadeia Produtiva da Carne.

Produção de carne bovina / mil toneladas					
Ano	EUA	**BRASIL**	CHINA	ARGENTINA	INDIA
2003	12,039	**7.245**	6.305	2.800	1.960
2004	11,261	**7.690**	6.759	3.130	2.130
2005	11.317	**7.817**	7.140	3.200	2.230
2006	11.891	**7.463**	7.575	3.100	2.300

Fonte: CASTILLO, 2005.

Nosso país, que fica em segundo lugar, considerando o tamanho do rebanho e a produção de carne, e que tem como base de seu rebanho a genética zebuína, é considerado o maior exportador de carne do mundo (SANTIAGO, 2006).

O crescimento projetado para a produção de carne bovina no Brasil, no período de 2006 / 07 a 2016 / 17, é de 2,5%, e para o crescimento da exportação é de 2,9% ao ano (CONTINI, 2006).

O desenvolvimento científico-tecnológico e a modernização da atividade rural obtidos por intermédio de pesquisas contribuíram para transformar o país numa das mais respeitáveis plataformas mundiais do agronegócio (CONTINI, 2006).

A marca histórica na agropecuária do país é dada graças a uso de biotécnicas que visam a aumentar a eficiência reprodutiva do rebanho nacional (NASSER, 2006).

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica que permite recolher embriões de uma fêmea doadora e transferi-los para fêmeas receptoras, com a finalidade de completarem o período de gestação. Apesar dos procedimentos sofisticados necessários para sua implantação, a TE é uma técnica mundialmente difundida. Sua importância básica para a produção animal consiste na possibilidade de uma fêmea produzir um número de descendentes muito superior ao que seria possível obter fisiologicamente, durante sua vida reprodutiva (REICHENBACH *et al.,* 2002).

A TE, que é o método mais empregado no mundo para a disseminação de material genético feminino de alto valor, além de acelerar o ganho genético possibilita a comercialização de material genético entre os continentes (REIS, 2004).

A TE vem sendo utilizada por muitos países. O emprego de transferência de embriões com múltipla ovulação (MOET) aumenta em quase duas vezes a taxa de ganho genético obtido com as estratégias tradicionais em um rebanho (NASSER, 2006).

Os tratamentos superovulatórios são amplamente utilizados nos programas de TE para aumentar o fornecimento de embriões de animais de mérito genético superior (HAFEZ, 1995).

O objetivo dos tratamentos de superovulação (SPO), realizados em fêmeas doadoras, é obter o maior número possível de embriões transferíveis que apresentem grande probabilidade de produzir prenhez (NASSER, 2006).

O melhoramento genético e o aumento da eficiência reprodutiva das matrizes são fundamentais para alcançar metas anuais superiores às de anos anteriores (REIS, 2004).

1.1 Objetivo

O objetivo deste trabalho é dar enfoque aos métodos geralmente utilizados para efetuar a SPO, assim como às características peculiares dos animais zebuínos (*Bos taurus indicus*), e aos aspectos fisiológicos da reprodução, para se obter o melhor resultado na produção de embriões, o que pode aumentar o número e a qualidade de animais considerados geneticamente superiores.

2 FISIOLOGIA DO CICLO ESTRAL

Nos animais domésticos que apresentam períodos limitados de estro, usa-se o termo ciclo estral e o início do proestro define o início do ciclo (CUNNINGAM, 1999).

A idade da puberdade no bovino é, em média, de doze meses e o ciclo estral é do tipo poliéstrico, ciclando o ano inteiro. A duração do estro na vaca é, em média, de 18 horas e a ovulação ocorre entre 10 a 12 horas após o final do estro (AIELLO, 2001).

O período de ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas: a fase estrogênica que se estende do proestro ao estro culminando na ovulação, e a luteínica ou progesterônica que compreende o metaestro e o diestro, terminando na luteólise (REIS, 2004).

A duração do ciclo estral dos bovinos varia entre 17 e 25 dias, com semelhanças entre fêmeas zebuínas e taurinas (NASSER, 2006). A média do ciclo estral quando mantidas em condições ambientais adequadas é de 21 dias: o proestro de três dias, o estro de 18 horas, o metaestro de dois a três dias e o diestro, ou fase luteínica, aproximadamente de 14 dias (GONSALVES, 2001).

O proestro é o período de desenvolvimento folicular, que é subseqüente à regressão lútea e termina no estro; estro é o período de receptividade sexual; metaestro é o período do desenvolvimento inicial do corpo lúteo (CL); diestro é o período da fase madura do CL (CUNNINGHAM, 1999).

O ciclo estral resulta da interação coordenada dos tecidos do sistema nervoso central (hipotálamo-hipófise), ovário e útero. Essa comunicação entre órgãos ocorre principalmente mediante o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), produzido no hipotálamo; hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH), ambos produzidos na hipófise; estradiol (E) e progesterona (P4), produzidos no ovário, e prostaglandina 2α (PGF2α) produzida pelo útero (GONZÁLEZ, 2002).

Os hormônios, órgãos secretores e função são demonstrados no quadro 1.

HORMÔNIO	FONTE	FUNÇÃO
GnRH	hipotálamo	promove a liberação do FSH e LH
FSH	hipófise anterior	estimula o desenvolvimento folicular e a secreção de estrógenos
LH	hipófise anterior	estimula a ovulação, formação e manutenção do corpo lúteo
estradiol	folículo (ovário)	estimula a manifestação do cio e a liberação de LH
progesterona	corpo lúteo (ovário)	manutenção da gestação

Quadro 1 : Hormônios, o órgão secretor e a função relacionados à reprodução de bovinos.
Fonte: HAFEZ, 1982.

O GnRH é um peptídeo que controla a secreção de gonadotrofinas, principalmente do LH e, portanto, a função gonadal. Esse hormônio hipotalâmico é liberado de modo pulsátil e, na fêmea, a sua freqüência e amplitude variam durante os estágios reprodutivos nas diferentes espécies (FRANCI *et al*,1999).

A secreção de LH e FSH é controlada pelo GnRH, sendo que ambos são liberados de uma forma tônica ou basal tanto no macho como na fêmea. Os níveis tônicos de LH e FSH são controlados através de um mecanismo de retroalimentação negativa das gônadas (HAFEZ, 1996). Um exemplo clássico da retroalimentação negativa é o meio pelo qual a produção de estrógeno e inibina conseguem causar uma diminuição na concentração de FSH (GONSALVES, 2001).

A onda pré-ovulatória de LH começa em média 24 horas antes da ovulação na vaca e resulta na liberação o oócito (CUNNINGAM, 1999).

O efeito da onda de LH na granulosa é permitir o processo de luteinização que transforma as células produtoras de E2 em produtoras de P4. Com a chegada do LH, a secreção de E2 declina e inicia a secreção de P4 (CUNNINGAM, 1999).

O 17β-estradiol (E-17β) é produzido pelo folículo e induz o cio comportamental e, quando a P4 entra em declínio, eleva o LH (HAFEZ, 1995).

Durante o cio comportamental, as fêmeas bovinas apresentam manifestações caracterizadas por imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, descarga de muco vaginal, mugidos freqüentes, intensa movimentação, aumento na freqüência de micção. Fêmeas *Bos taurus indicus* geralmente apresentam estro de duração de aproximadamente 10 horas e mais de 50% dos animais desse grupo

genético iniciam a manifestação de cio no período entre 18h00min e 06h00min (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007). Fêo (1999) também relata que geralmente as raças zebuínas apresentam o cio mais curto, em relação a taurinas, com maior parte dos animais manifestando o cio no período noturno.

Mizuta (2003), em seu trabalho, avaliou as características do estro por radiotelemetria e intervalos estro-ovulação em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) (tab. 3).

TABELA 3: Características do estro avaliadas por radiotelemetria e intervalos estro-ovulação em vacas Nelore *(Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*). Características Grupos Genéticos.

Características	Nelore	Nelore x Angus	Angus
Duração do estro	12,9 / 2,9 (n=25)	12,4 / 3,3 (n=35)	16,3 / 4,8 (n=26)
Número de montas / estro	28,2 /13,2 (n=25)	34,1/ 19,2 (n=35)	29,7 /19,4 (n=26)
Intensidade do estro (montas / hora de estro)	2,3 / 1,3 (n=25)	2,8 / 1,5 (n=36)	1,9 / 1,2 (n=26)
Intervalo estro-ovulação (h)	27,1 / 3,3 (n=8)	25,7 / 7,6 (n=10)	26,1 / 6,3 (n=7)

Fonte: MIZUTA, 2003.

Neste caso, Mizuta (2003) observou em 25 fêmeas Nelore que a duração do estro em média foi de 12,9 horas e se mostrou menor do que a observada em 26 animais Angus, que apresentaram tempo de duração de estro em média de 16,3 horas.

Após a ovulação, as fêmeas apresentam um CL no local onde se encontrava o folículo dominante (FD). A principal função do CL é a produção da P4 que é essencial para a gestação (CUNNINGAM, 1999).

Depois de atingida a capacidade máxima, a produção de P4 se mantém até em torno do dia 16° / 17° do ciclo estral, quando ocorrerá a luteólise (REIS, 2004).

O CL das vacas possui dois tipos de células que são as luteínicas grandes e as pequenas que se diferem na produção de hormônios (PRESTES & ALVARENGA, 2006).

As células luteínicas pequenas absorvem mais colesterol, mas são menos sensíveis ao LH e produzem P4 em pulsos por um período curto. As células luteínicas grandes têm maior sensibilidade ao LH e absorvem colesterol das células pequenas, podendo secretar P4 por períodos mais longos (PRESTES & ALVARENGA, 2006).

A regressão do CL nos ruminantes é realizada pela PGF2α, que é um fator luteolítico. A PGF2α chega aos ovários pelo mecanismo de contra-corrente que opera transferindo a PGF2α da veia uteroovariana para a artéria ovariana, evitando que o hormônio seja inativado (GONSALVES, 2001).

A luteólise pode ser bloqueada naturalmente pela ação de uma proteína produzida pelo concepto chamada trofoblastina ou interferon Tau, próximo à implantação do embrião, após a ovulação e fecundação (GONSALVES, 2001).

Caso o concepto esteja presente no útero entre os dias 14° e 17° do ciclo, e ocorra a secreção adequada de interferon Tau, não ocorrerá a liberação de PGF2α e a P4 continuará sendo secretada para a manutenção da prenhez (REIS, 2004).

Dias do ciclo estral e hormônios predominantes em cada fase em bovinos são representados no gráfico 1.

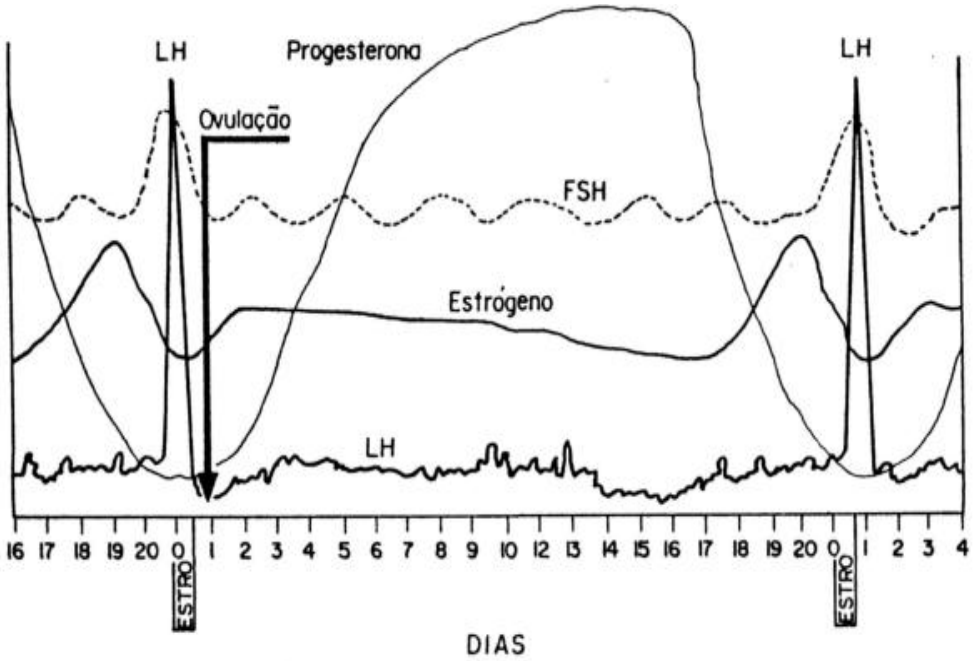

Gráfico 1: Representação esquemática das variações, na concentração dos principais hormônios que regulam o cicio estral em bovinos. O gráfico acima mostra que no proestro os níveis de P4 entram em declínio e os de E2 aumentam, fazendo com que ocorra o estro, que é o período de receptividade sexual da fêmea. Com o E2 aumentando sua concentração, o LH também se eleva chegando a um pico que provoca a ovulação. A ovulação ocorre no metaestro e, após o CL se tornar maduro, começa o diestro que dura aproximadamente 14 dias, sendo este encerrado pela luteólise, iniciando novamente o proestro.

Fonte: KING & KIRACOFS, 1982, BERARDINELLI & ADAIR, 1989.

3 DINÂMICA FOLICULAR

A unidade funcional da gônada feminina que contém o gameta feminino é o folículo; a principal função do folículo é proporcionar um ambiente ideal para o crescimento e maturação do ovócito, bem como produzir hormônios como o estrógeno (E2), o E-17β e peptídeos (PRESTES & ALVARENGA, 2006).

Ao nascimento, as fêmeas dos mamíferos possuem, em seus ovários, folículos primordiais contendo ovócitos estacionários no estado dictióteno da prófase I da meiose. Esses ovócitos vão sofrer maturação na fase de crescimento do folículo e reinício da meiose (maturação final) no folículo pré-ovulatório, somente após a puberdade (PRESTES & ALVARENGA, 2006).

Segundo Renesto (2004), o crescimento folicular na espécie bovina exibe padrão contínuo de crescimento e atresia dos folículos ovarianos que se inicia na vida fetal, passa pela puberdade e continua na vida reprodutiva até a senilidade.

O desenvolvimento de ondas foliculares acontece em vários estágios reprodutivos dos bovinos. O processo de contínuo crescimento e regressão folicular é conhecido por dinâmica folicular (BORGES et al., 2004).

O acompanhamento diário das estruturas ovarianas por ultra-sonografia tem demonstrado que os bovinos apresentam ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral (BORGES *et al*., 2001).

O desenvolvimento folicular de bovinos ocorre em um padrão de ondas. Cada onda de crescimento folicular é caracterizada por um grupo de pequenos folículos que são recrutados e iniciam uma fase de crescimento comum por cerca de três dias (GINTHER *et al*., 2003). Destes folículos, apenas um continua seu desenvolvimento, enquanto os outros sofrem decréscimo de tamanho, estabelecendo-se então, o fenômeno da divergência folicular (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

A emergência de uma onda é caracterizada por um crescimento de mais de 20 folículos pequenos que são estimulados pelo FSH (REIS, 2004).

A etapa de onda de crescimento folicular é denominada fase de recrutamento, e está associada ao aumento das concentrações plasmáticas de FSH. A concentração de FSH atinge seu pico máximo quando o maior folículo denominado dominante (FD) atinge o tamanho de 4 a 5 mm (*Bos taurus indicus*) (NASSER, 2006).

Segundo Renesto (2004), a emergência da primeira onda folicular é observada em torno de 1,5 dia após a ovulação; quando um conjunto de folículos antrais dependentes de FSH começa a se desenvolver, observa-se então um aumento na concentração plasmática de FSH que antecede 1 a 2 dias a emergência de cada onda folicular. Em torno de 3 a 4 dias, após a emergência da onda, o FSH reduz para níveis basais e o futuro folículo dominante é selecionado, e continua seu crescimento, enquanto o restante dos folículos detém seu crescimento ou regride e são chamados de subordinados.

Cada onda de crescimento folicular é dividida em quatro fases: emergência, seleção, dominância e atresia ou ovulação (REIS, 2004).

Normalmente, um só folículo ovula no ciclo estral dos bovinos. Dois folículos ovulam em 10% dos casos, enquanto três não são freqüentes (HAFEZ, 1995).

Uma das maneiras do FD manter seu “status” é produzir substâncias que inibam o desenvolvimento de outros folículos antrais. Uma dessas substâncias é a inibina, um hormônio peptídeo produzido pela granulosa que inibe a secreção do FSH (CUNNINGAM, 1999).

A inibina possui como ação biológica, efeito de retroalimentação negativa sobre a liberação de FSH, aparentemente através de efeito direto sobre a hipófise (FLORIANI, 2006).

A imunização ativa, contra a inibina, resulta em concentração plasmática aumentada de FSH, no desenvolvimento de mais folículos e em taxa de ovulação elevada quando comparada com animais controle (presumivelmente pela supressão da retroalimentação negativa da inibina sobre a secreção pituitária de FSH) (PETERS e BALL, 2006).

Segundo Renesto (2004), a responsável pela queda do FSH, antes da seleção, é a produção de E2 e inibina, sobretudo pelas células da granulosa do FD, que atuam inibindo a liberação de FSH pela hipófise anterior.

Durante o ciclo estral, ocorrem duas ondas de atividade ovariana. Na primeira onda, um pequeno folículo cresce, entre os 5° e 11° dia, entrando então em atresia. Este folículo não ovula, mas secreta E2. Na segunda onda, folículos grandes, que produzem o E2, rapidamente regridem, ficando apenas um folículo grande presente no ovário, durante o ciclo estral, controlando o destino dos outros folículos (HAFEZ, 1995).

Vacas e novilhas podem ter duas ou três ondas por ciclo, com um folículo tornando-se dominante em cada uma delas. Por isso, uma população de pequenos, médios e grandes folículos é encontrada em cada ovário, durante todos os dias do ciclo estral (BORGES *et al*., 2001).

Nos bovinos, o desenvolvimento folicular apresenta a particularidade de, na maioria dos animais, consistir de duas ou de três ondas de crescimento, sendo cada onda formada por um grupo de folículos com diâmetro maior ou igual a 4 mm (RASI , 2005; BARROS e NOGUEIRA, 2001).

A dinâmica folicular em animais zebuínos, ainda pouco estudada, tem-se mostrado diferente da de bovinos de raças européias, de modo que o diâmetro dos FD e a área do CL são menores nas fêmeas zebuínas (BORGES et al., 2004).

Em zebuínos, existem relatos que descrevem maior incidência de três ondas, sendo notificada à presença de até quatro ondas de crescimento folicular por ciclo estral (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Em um experimento realizado por Viana et al. (2000), foram observados ciclos com duas (6,27%), três (60%), quatro (26,6%) e cinco (6,67%) ondas de crescimento folicular. Neste experimento, foi concluído que na raça Gir a predominância é de três e quatro ondas de crescimento folicular (gráficos 2, 3, 4 e 5).

.

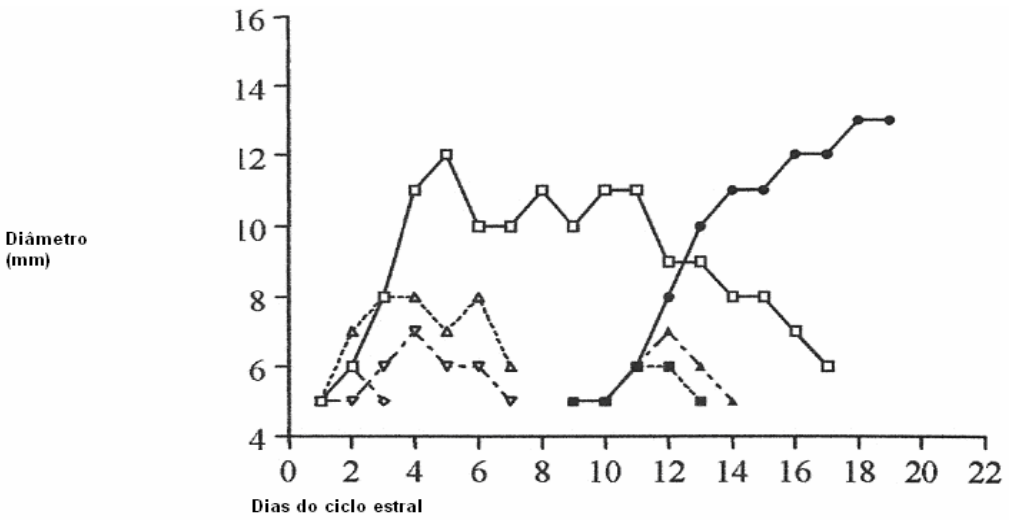

Gráfico 2: O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica folicular de uma vaca Gir com duas ondas foliculares durante o ciclo estral. As linhas contínuas representam folículos dominantes, e linhas pontilhadas folículos subordinados. Os símbolos abertos representam folículos da 1ª onda folicular, e os símbolos fechados, folículos da 2ª onda

Fonte: VIANA *et al.,* 2000.

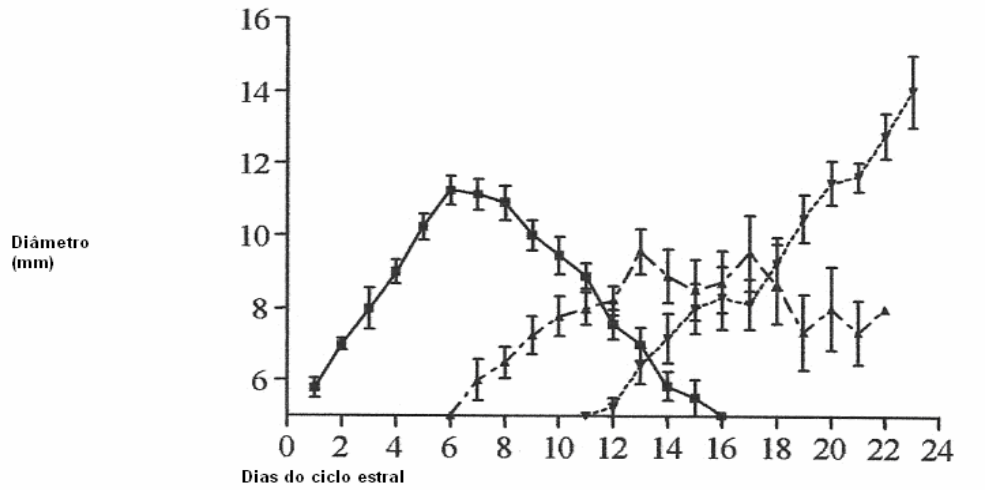

Gráfico 3: O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica de crescimento folicular de vacas Gir, com três ondas foliculares durante o ciclo estral. As linhas representam a 1ª, 2ª e 3ª onda folicular.

Fonte: VIANA *et al.*, 2000.

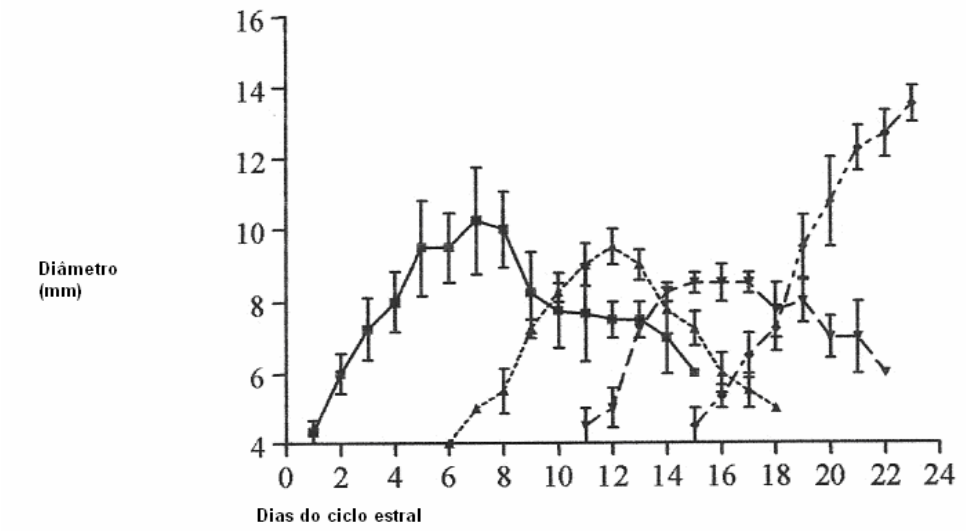

Gráfico 4: O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica folicular de vacas Gir com quatro ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral. As linhas representam 1ª, 2ª, 3ª e 4ª onda de crescimento folicular.
Fonte: VIANA *et al*, 2000.

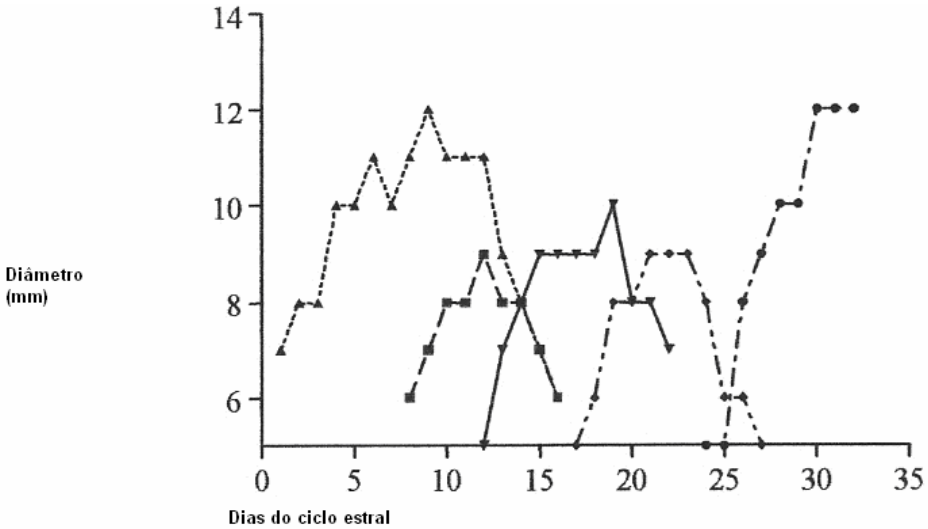

Gráfico 5: O gráfico mostra o diâmetro, dias do ciclo estral e dinâmica de crescimento folicular de vacas Gir com cinco ondas de crescimento folicular. As linhas representam a 1ª, 2ª, 3ª, 4ª e 5ª onda.
Fonte: VIANA *et al,* 2000.

Tonson *et al*. (2002) citado por Reis, (2004) avaliou a fertilidade de vacas Holandesas (*Bos taurus taurus*), submetidas a IA, e concluiu que os animais que apresentaram três ondas de crescimento folicular obtiveram maior concepção do

que os que apresentavam duas ondas, sendo que esses achados também foram verificados em vacas de corte. Essa diferença pode ser explicada pelo menor tempo de crescimento do folículo ovulatório em animais com três ondas, melhorando a qualidade do oócito.

O número de ondas parece estar associado ao comprimento do ciclo e à duração da fase luteínica (BORGES et al., 2001). Rasi (2005) ressalta que a emergência da 3ª onda folicular está associada a uma fase luteínica mais prolongada.

Ciclos estrais com três ondas foliculares têm maior duração do que aqueles com duas ondas. Este período apresenta bastante variabilidade dentre o mesmo indivíduo e conforme a condição nutricional (FÊO, 1999).

Segundo Dode *et al.* (2000), os ovários e o CL de fêmeas zebuínas são menores que os de fêmeas taurinas e apresentam também menor número de folículos por ovário, e com menor diâmetro.

Segundo Baruselli, Gimenes e Sales (2007), fêmeas *Bos taurus indicus* recrutam maior número de folículos por onda de crescimento folicular do que nas fêmeas *Bos taurus taurus* e tem-se a hipótese de que o maior número de folículos presentes no ovário pode ser devido à elevada concentração de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I).

Segundo Nasser (2006), vacas Brahman (*Bos taurus indicus*) apresentam maiores concentrações plasmáticas de IGF-I e menores concentrações de FSH do que vacas Angus (*Bos taurus taurus*). Assim, a maior quantidade de folículos encontrados em vacas Brahman poderia ser decorrente da alta concentração de IGF-I.

O hormônio do crescimento, o IGF-I, e as proteínas ligadoras de IGF são importantes no controle da função ovariana (RAMOS et al., 2007).

Diversas ações sobre a atividade ovariana, incluindo o sinergismo e a amplificação dos efeitos das gonadotrofinas no crescimento e na esteróidogênese, bem como no estabelecimento da dominância folicular são afetadas pelo sistema IGF (SHOENAU *et al.,* 2005).

Segundo Reis (2004), algumas diferenças endocrinológicas têm sido relatadas, segundo as quais o zebu apresenta menor capacidade de secreção de LH e reduzidos níveis circulantes de E2 e P4 em relação às raças européias.

Os diâmetros dos FDs e subordinados são menores em *Bos taurus indicus* do que em *Bos taurus taurus*; a divergência folicular em *Bos taurus indicus* ocorre com diâmetros inferiores aos relatados para *Bos taurus taurus*, e também a capacidade ovulatória em *Bos taurus indicus* é adquirida com diâmetros inferiores às observadas em *Bos taurus taurus* (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Animais *Bos taurus indicus* apresentam diâmetros máximos do FD (10 a 12 mm) e do CL (17 a 21 mm), menores do que o diâmetro característico de animais *Bos taurus taurus,* que apresentam o FD de 14 a 20 mm e o CL de 20 a 30 mm (NASSER, 2006).

Um estudo em vacas da raça Gir, realizado por Reyes *et al*. (2005), sobre ondas de crescimento folicular anovulatórias, com cada onda apresentando um folículo dominante e um variável número de outros menores (subordinados) mostrou o seguinte (tab. 4).

TABELA 4: Ondas foliculares e dias de crescimento, média do tamanho dos folículos e variação do tamanho dos folículos da raça Gir.

Ondas (dias)	Folículos/média	Variação
≤12 dias	9,4 mm	0,3 mm
= 13 a 16 dias	10,4 mm	0,2 mm
≥ 17 dias	11,6 mm	0,4 mm

Fonte: REYES *et al*., 2005.

Com os dados demonstrados na tabela, pode-se concluir que as ondas de crescimento folicular que são geradas mais próximas do fim do ciclo estral, apresentam média do tamanho dos folículos maiores, em relação aos do inicio do ciclo estral.

4 SUPEROVULAÇÃO

A SPO é o aumento do número fisiológico de ovulações, próprio de cada espécie, provocado através da administração exógena de gonadotrofinas. Nos bovinos, considera-se que houve resposta ao tratamento quando se conseguem mais de duas ovulações (PFEIFER; CORREA; PINESCHI, 2005). A SPO, portanto, é um método de estimular diversos folículos terciários a se desenvolverem até o estágio de pré-ovulação, com subseqüente ovulação (RASI, 2005).

Na presença de altas concentrações plasmáticas de P4, o folículo perde a dominância e sofre atresia, recomeçando uma nova onda folicular (FÊO, 1999), ou contrariamente, o FD presente no momento da regressão luteínica pode ovular (FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004). O aproveitamento mais racional desses folículos que se tornam atrésicos pode ser obtido por meio da SPO (RASI, 2005).

A variação do número de embriões, após diferentes tratamentos de SPO, tem sido atribuída a fatores individuais, pois utilizando tratamentos idênticos se obtêm respostas altamente variáveis (RASI, 2005).

Donaldson (1984) citado por Rasi, (2005) demonstrou que mesmo cumprindo todos os requisitos, a resposta superovulatória resulta em muita variação, pois em um estudo que envolveu 1263 doadoras superovuladas, somente 68% produziram embriões transferíveis.

A resposta das doadoras a SPO apresenta grande variabilidade tanto na taxa de ovulação, quanto na produção de embriões viáveis. Há grande efeito da idade da doadora sobre a SPO, do coeficiente de endogamia da doadora, da ordem de colheita, da dose da droga e do número de inseminações sobre esses resultados (PEIXOTO et al., 2002).

Estudos comparando a taxa de fertilização entre vacas não-superovuladas às superovuladas, mostraram taxas menores nas superovuladas. De um total de 1188 vacas não-superovuladas com taxa de fertilização de 82,1% e 1041 vacas superovuladas com taxa de fertilização de 62,7%. Esses estudos que lavaram o oviduto ou útero de bovinos com propósito de avaliar taxas de fertilização ou qualidade embrionária entre os dias 3 e 14 após a IA em vacas coletaram abaixo de 85% de embriões ou óvulos por CL. Isso acontece provavelmente pela porcentagem de oócitos que não são capturados pelo infundíbulo após a ovulação ou a

porcentagem de embriões/ óvulos que não são transportados para o útero 3 a 4 dias após o pico de LH, que não é conhecida, mas é provável que alguns embriões/óvulos sejam perdidos antes de alcançarem o útero. Nos bovinos, os tratamentos superovulatórios têm efeitos adversos na maturação ovocitária ou das células da granulosa, comprometendo a fertilização e a viabilidade embrionária. A menor taxa de fertilização nesses animais pode ser em decorrência de distúrbios no transporte de espermatozóide e ovócitos, além da qualidade inferior dos ovócitos (PRESTES & ALVARENGA, 2006).

O uso de FSH exógeno para induzir a SPO é baseado na função fisiológica. Folículos em vários estágios de desenvolvimento estão normalmente presentes nos ovários, em qualquer tempo. Grupos consecutivos de folículos pequenos crescem, maturam e se degeneram ou ovulam. O FSH estimula o crescimento dos folículos pequenos, revertendo a atresia de folículos acima de 1,7mm (RASI, 2005).

A estimulação hormonal com FSH pode ser iniciada antes da emergência da onda folicular ou no dia da emergência, ou seja, antes dos folículos subordinados iniciarem seu processo de atresia. A resposta ovariana a SPO depende do número de folículos presentes no ovário, sensíveis a gonadotrofina e do estágio da onda folicular no momento em que a aplicação de FSH é iniciada (RENESTO, 2004).

O FSH quando utilizado em programas de SPO por via IM, possui a meia-vida curta existindo a necessidade de injeções repetidas com intervalo de 12 horas para que ocorra a SPO desejada (GONSALVES, 2001).

A SPO em Nelore pode ser induzida com oito injeções intramusculares de FSH (Pluset®), administradas em doses decrescentes, duas vezes ao dia, por quatro dias consecutivos (manhã/tarde: 62,5 UI/62,5 UI; 52,5 UI/52,5 UI; 35 UI/35 UI e 25 UI/25 UI; dose total de 350 UI) (GRADELA *et al*, 2000).

Segundo Rasi (2005), em diversos protocolos de SPO, utilizados em vacas da raça Gir leiteiro, existe uma dosagem de FSH que demonstrou melhor resultado, em que utilizando 300, 400 ou 500 UI de Pluset®, se teve uma SPO melhor e com uma maior produção de embriões viáveis na concentração de 400 UI (tab. 5).

TABELA. 5: Números médios de embriões viáveis, estruturas totais, vacas em estro da raça Gir leiteiro superovuladas com 300, 400 ou 500 UI de FSH.

Dose FSH	300	400	500
Número de animais	25	26	16
Vacas em estro	14 (66%)	18 (69,23%)	12 (75%)
Embriões viáveis	1,44	2,92	1,63
Estruturas totais	3,6	4,92	2,88

Fonte: RASI, 2005.

Em vacas taurinas adultas, a dosagem recomendada pelo fabricante do hormônio FSH é de 500UI de Pluset® ou 400mg de Folltropin®, enquanto que a dosagem recomendada para zebuínos é a metade desse valor. Quando há resposta exagerada (formação de muitos Cls) ou excesso de folículos não ovulados, sugere-se a redução da dosagem ou troca do hormônio utilizado (RASI, 2005).

Em um experimento realizado para testar a dose adequada de FSH ovino (Ovagen®) em vacas Nelore (n=12), foi observado que a dose de 4,5 mg proporcionou decréscimo na produção de embriões transferíveis, e entre as doses de 6 e 9mg não houve diferenças em relação à produção embrionária. O FSH ovino foi utilizado para iniciar o protocolo de SPO no dia 4 do protocolo sendo administrado em oito doses decrescentes com intervalo de 12 horas (MARTINS *et al*.,2006c).

Segundo Capovilla *et al*. (2000), consegue-se reduzir manejo das doadoras, empregando uma dose subcutânea (SC) de FSH, ao invés de duas aplicações diárias durante quatro dias, pois em pesquisas realizadas na década de 90, os resultados da SPO demonstraram que a aplicação de uma injeção SC de FSH, atrás da escápula e distante 30 cm da cernelha é semelhante ao método tradicional de várias aplicações.

Alvarez, Pires e Martinez (2006), em um estudo com 72 vacas Caracu (*Bos taurus taurus*), avaliaram a resposta ovariana e produção de embriões de SPO com dose única de FSH (Pluset®) e FSH (Folltropin V®), administrada por via SC. Os G1 e G2 (32 animais cada) receberam, por via SC, dose única de 400 UI de Pluset® (G1) e 300 mg de Folltropin V® (G2) aplicadas na região da paleta. Foram recuperados 5,6 ± 0,9 (G1) e 9,0 ± 0,8 (G 2) embriões e conclui-se que o uso de

Pluset® ou Folltropin V® em dose única SC não afeta de forma diferenciada a resposta ovariana nem a qualidade de embriões de vacas em boa condição corporal.

Para que uma aplicação SC única possa ser eficiente, é necessário que o animal apresente uma camada razoável de gordura SC. A injeção SC de hormônios determina menor resposta de SPO em gado leiteiro, porque este possui maior deposição de gordura abdominal do que SC (CAPOVILLA et al., 2000).

Outra forma para se conseguir aumentar a concentração de P4 plasmática, é a indução de SPO, através da indução de um maior recrutamento folicular pela utilização de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG), durante o protocolo de sincronização. O eCG é uma glicoproteína produzida pelos cálices endometriais e se comprova biologicamente ativa entre os dias 35 e 140 da gestação da égua (PFEIFER; CORREA; PINESCHI, 2005).

O eCG possui meia-vida longa, sendo de 8 a 14 dias quando utilizado por via IM em bovinos, podendo ser utilizado em dose única para promover SPO (GONSALVES, 2001).

Segundo Souza (2006b), mais experimentos são necessários para avaliar o resultado do uso de eCG em tratamentos superovulatórios repetidos devido a possibilidade de formação de anticorpos contra o eCG e uma possível diminuição da resposta superovulatória.

Segundo Gonsalves (2001) as doadoras devem receber por via IM, 5 ml do soro anti eCG (Neutra PMSG®), no momento da 2° IA para neutralizar a ação dessa gonadotrofina após o estro superovulatório.

4.1 Superovulação utilizando cio base

Segundo Aiello (2001) o cio determina o dia de início do tratamento superovulatório em doadoras.

Em programas de SPO em bovinos, é necessário a atenção dos técnicos, pois para se conseguir que os folículos se revertam e ao invés de entrar em atresia, cresçam para chegar à ovulação, é preciso que esses folículos estejam em um determinado tamanho (RASI, 2005).

Segundo Hafez (1995), o maior avanço na metodologia da SPO, na última década, foi utilização de PGF2α ou análogos, para que o tratamento fosse iniciado a qualquer hora do estro entre o dia 6 do ciclo e a regressão do CL. Portanto, o método de sincronização de cio com PGF2α ou análogos é utilizado para que se possa regredir o CL e saber quando esse animal vai retornar ao cio.

Utilizando a SPO pelo método de observação do cio base, tem-se que começar o tratamento superovulatório coincidindo com o início da emergência da segunda onda folicular. Os dias do tratamento se concentram entre o 8º e 14º dia, onde quando utilizado o eCG , a aplicação é geralmente no 1° dia desse período e quando se utiliza o FSH é recomendado aplicações decrescentes com intervalo de 12 horas por 4 dias consecutivos que podem ser iniciados no 8°, 9º ou 10° dia após a detecção do cio base (AIELLO,2001;GONSALVES, 2001; FONSECA *et al*. 2001; RENESTO, 2004; RASI, 2005; PFEIFER; CORREA; PINESCHI, 2005) .

Utilizando o cio natural realizam-se oito aplicações de FSH com intervalos de 12 horas, para aumentar o recrutamento dos folículos e no 3° dia da SPO, realizam-se duas aplicações de PGF2α com o intuito da luteólise do CL, para que haja redução da P4 e conseqüente pico de LH, ocorrendo assim a ovulação (RASI, 2005) (Quadro 2).

Dia	0	10	11	12	13	14	15
Manhã	Estro	FSH	FSH	FSH	FSH	Cio	IA
Tarde		FSH	FSH	FSH/ PGF2α	FSH	IA	

Quadro 2: Protocolo utilizado para SPO utilizando o cio natural.

Fonte: RASI, 2005.

Gonsalves (2001) utiliza a PGF2α no 4° dia de tratamento, visando a regressão do CL. As doadoras, em média, evidenciarão estro entre 48 a 72 horas após a aplicação da PGF2α . Aiello (2001) relata que PGF2α pode ser administrada no 3° ou 4° dia do tratamento com gonadotrofinas e o estro deve ocorrer 36 a 48 horas mais tarde.

Visintin *et al.* (1999) em um trabalho com novilhas Nelore (n=24) como doadoras de embriões, foram superovulados com 300, 400 ou 500 UI de FSH/LH, sendo administradas em 8 subdoses decrescentes, com início no 10º dia após os sintomas de estro, durante 4 dias consecutivos, com intervalo de 12 horas. Foi aplicado PGF2α concomitante com a quinta subdose de FSH/LH, realizando-se 2 IAs às 12 e às 24 horas após o início dos sintomas de estro. As colheitas de embriões foram realizadas dia 6,5 após a primeira IA. A melhor média de embriões recuperados por doadora, foi de 5,2 embriões viáveis com a dosagem de 300 UI de FSH/LH, onde as outras duas dosagens recuperaram 1,81 e 2,76 embriões viáveis respectivamente.

Fonseca *et al.* (2001) em um trabalho utilizando animais *Bos taurus indicus,* com detecção do estro base, as fêmeas foram superovuladas a partir do 10ºdia do ciclo estral com FSH na dosagem de 350UI, fracionada em oito doses decrescentes, administrados a cada 12 horas, por via intramuscular, durante quatro dias. Os animais receberam duas doses de um miligrama por via IM de cloprostenol 60 e 72 horas após o início da SPO para indução do estro. Cada doadora foi submetida a três IAs. A primeira foi realizada 14 horas após início do estro e as demais a cada oito horas após a primeira. Obteve-se média geral de 5,2 (135/26) embriões viáveis por doadora.

Segundo Bényei e Barros (2000), em seu experimento com vacas Holandesas (*Bos taurus taurus)*, foi feita indução do cio com PGF2α (Veteglan®), e depois de 8 a 12 dias com base na presença de CL fluorescentes, fez-se a SPO, testando eCG, (Folligon®) e três tipos de FSH, (AUSA-Superov®, Folltropin V® e Pluset®). Depois de 48 horas do início do tratamento, aplicou-se PGF2α para induzir o cio, e após 60 e 72 horas, fez-se a IA (tab. 6 e 7).

TABELA. 6: Resultados de produção de embriões em 1996.

Tratamentos	FSH	eCG
Número de ovulações	3,3± 1,5	4,2± 3,9
Número de estruturas coletadas	2,8± 1,7	3,8± 2,6
Número de embriões viáveis	1,9± 1,5	2,3± 2,2

Fonte: BÉNYEI, 2000.

TABELA. 7: Resultados de produção de embriões em 1997.

Tratamentos	FSH	eCG
Número de ovulações	8,2± 5,7	9,6± 3,8
Número total de estruturas	6,5± 3,5	7,4± 0,9
Embriões viáveis	5,5± 3,5	4,0± 0,8

Fonte: BÉNYEI, 2000.

Os resultados indicam que, neste caso, os tratamentos com eCG tiveram um melhor rendimento comparado ao FSH, em 1996, quando mostraram números de ovulações, número total de estruturas e número de embriões viáveis, maiores do que o tratamento com FSH. Em 1997, foi visto, neste experimento, que o número de ovulações e total de estruturas foi maior no tratamento com eCG, mas o de embriões viáveis foi menor quando comparado ao FSH.

4.2 Superovulação utilizando progesterona e estrógeno

O uso de P4 e E2 em protocolos foi um grande avanço para a biotecnologia da reprodução animal, permitindo que a SPO fosse iniciada em fase aleatória do ciclo estral dos bovinos pelo fato de sincronizar o início da onda folicular. Esses protocolos são tão eficazes no gado *Bos taurus indicus* quanto no *Bos taurus taurus*, permitindo iniciar tratamentos de SPO com dosagens mais baixas de FSH no *Bos taurus indicus*, do que em doadoras *Bos taurus taurus* (BARUSELLI *et al.,* 2006).

O BE, em protocolos de SPO, é utilizado com a função de suprimir o desenvolvimento folicular, e sua resposta é mais eficaz quando combinada com aplicação de P4 IM na introdução de implante vaginal, CIDR®, ou auricular, CRESTAR®, de P4 (RASI, 2005) (Quadro 3).

Dia	0	4	5	6	7	8	9
Manhã	P4 + E2 + CIDR	FSH	FSH	FSH	FSH + Retirada do CIDR	CIO	IA
Tarde		FSH	FSH	FSH + PGF2α	FSH	IA	

QUADRO 3: Protocolo de SPO utilizando P4, E2 e FSH.

Fonte: RASI, 2005.

Bó *et al*. (2001) sugeriram o tratamento para sincronizar a emergência da onda folicular para SPO, aplicando 5mg de E-17β e 100 mg de P4, IM, no momento da aplicação do implante de P4; iniciando SPO quatro dias depois com FSH. Os resultados foram comparados aos tratamentos tradicionais (Quadro 4).

Tratamento	Gado de corte			Gado de leite		
	n	Total Ova/embrião	Embriões Transferíveis	n	Total Ova/embrião	Embriões Transferíveis
Tradicional	1073	12,8	6,6	254	8,9	5,1
P4 + E-17ß	307	12,1	6,3	187	10,3	6,0

QUADRO 4: Resposta superovulatória em vacas superovuladas entre os dias 8 e 12 após o cio (tradicional) e vacas tratadas com progestágeno + BE.

Fonte: BÓ *et al*, 2001.

Este tratamento determina uma resposta similar àquela decorrente do tratamento convencional. Além do que apresenta a vantagem de se iniciar o tratamento em dia aleatório do ciclo estral, melhorando a sincronização do grupo de doadoras, facilitando o manejo e realizando os tratamentos em dias previamente programados (BÓ *et al*., 2001).

Ribeiro Filho *et al*. (2004) avaliaram dois protocolos de sincronização do ciclo estral, sobre a resposta de SPO em zebuínos, em estágio aleatório do ciclo estral, foram submetidos aos seguintes protocolos: P1 (n=16) os animais tiveram a onda folicular sincronizada com um implante intravaginal, contendo 1,9g de P4 no D1 e aplicação de 3mg de BE IM no D2; neste grupo, o tratamento de SPO foi iniciado no D5 pela manhã. P2 (n=10) os animais receberam duas injeções de 75mg de D+Cloprostenol via submucosa-intravulvar, intervaladas por 14 dias, e a SPO foi iniciada nos dias 9 ou 10 após detecção do estro. O tratamento de SPO consistiu de uma quantidade total de 250UI de gonadotrofina hipofisária suína (Pluset®) divididas em oito doses decrescentes (50UI Bid; 37,5UI Bid; 25UI Bid e 12,5UI Bid); com a 5ª aplicação de FSH foi administrado 150mg de D+Cloprostenol IM e, com a 6ª dose de FSH, as vacas receberam 75mg de D+Cloprostenol IM. No P1, os animais tiveram os implantes vaginais retirados. As IAs foram realizadas 12 e 24 horas após o início do estro e os embriões colhidos sete dias após a primeira IA. O resultado mostrou que o P1 obteve melhor desempenho, com maior número de estruturas recuperadas e embriões viáveis, e apresentou embriões em estágio de desenvolvimento mais adiantado.

Renesto (2004), em seu experimento (vacas Nelore), realizou aspiração folicular em fase aleatória do ciclo estral, seguida pela inserção de implante de liberação lenta de progestágeno (Crestar®). Em torno de 48 a 60 horas após a aspiração, iniciou o tratamento de SPO utilizando FSH (Folltropin®), na dose total de 180 mg por vaca, com duração de quatro dias consecutivos, em oito aplicações. Durante a 6ª e a 7ª aplicações de FSH, foi administrada por via IM 500 mg de PGF2α (Preloban®). O implante de progestágeno foi retirado durante a administração da 7ª dose de FSH (Tab. 8).

TABELA 8: Esquema prático de superovulação com FSH.

Horário	Dia 1	Dia 2	Dia 3	Dias 4
	(FSH)	(FSH)	(FSH/ PGF2α)	(FSH/ PGF2α) retirada do implante de P4
7:00 h	40mg	20mg	20mg	10mg + 500mg
19:00 h	40mg	20mg	20mg + 500mg	10mg

Fonte: RENESTO, 2004.

Aproximadamente 12 horas após a SPO com o protocolo da tabela acima, foi aplicado 25 mg de LH para causar ovulação nos animais e IA em tempo fixo . Foram realizadas 2 inseminações com intervalo de 12 horas, sendo que a primeira foi 12 horas após a aplicação de LH, 7 dias após a 1° IA as fêmeas foram coletadas e divididas em grupos onde receberam PGF2α e foram novamente superovuladas. Ficou concluído nesse trabalho que a SPO realizada a partir 96 horas após a aplicação de PGF2α em animais previamente superovulados para colheita de embriões *in vivo,* não afeta a recuperação de oócitos e a produção *in vitro* de blastocistos onde a aspiração folicular próxima a administração de PGF2α (48h) prejudicou a recuperação de oócitos. Esse estudo afirma que até 48 horas após a PGF2α não houve emergência de onda folicular e esta ocorre provavelmente mais tarde em animais superovulados, pois acima de 72 horas observa-se um aumento no percentual de oócitos recuperados (RENESTO, 2004).

Segundo Nasser (2006), em seu trabalho sobre resposta de SPO na 1ª onda de crescimento folicular, realizado em doadoras Nelore, os animais receberam um CIDR® no D0, PGF2α no D5, e 12,5 mg de LH (Lutropin®) 24 horas após a remoção do CIDR® (D9), no D11 iniciou-se o tratamento de SPO. As doadoras de um grupo receberam um novo CIDR® juntamente com a 1ª dose de FSH (D11). A SPO de todos os animais foi realizada com 133 mg FSH (Folltropin®) diluídos em 10 ml de soro fisiológico, com duas aplicações diárias de 1 ml, por cinco dias. No último dia de tratamento, junto com o FSH, foram aplicadas 2 doses luteolíticas de PGF2α e o CIDR® foi removido junto com a última aplicação. As doadoras receberam 25 mg de

LH 24 horas após a última dose de FSH e foram inseminadas 12 e 24 horas após o LH. Ficou concluído, neste experimento, que a SPO na 1ª onda de crescimento folicular é eficiente somente com suplementação exógena de P4, pois a produção de embriões viáveis em doadoras tratadas na primeira onda de crescimento folicular com suplementação exógena de P4 foi semelhante àquela verificada em doadoras superovuladas na onda induzida com P4 + BE, e superiores àquela de doadoras tratadas na primeira onda sem suplementação exógena de P4, nas quais ocorreu comprometimento na qualidade dos embriões produzidos.

Associado a protocolos que utilizam P4 e E2, Martins *et al.* (2006b), testaram a eficiência entre eCG e FSH em vacas Nelore. Nos tratamentos com eCG, os animais receberam 2500 ou 2000UI de Novormon® em dose única no D4. No tratamento com FSH, administrou-se 100mg de Folltropin® em oito doses decrescentes de 12 em 12 horas a partir do D4. Os resultados obtidos , foram de que utilizando eCG-2500, eCG-2000 e FSH-10mg, não houveram diferenças entre o número de folículos maiores que 8mm no momento da ovulação, taxa de recuperação, estruturas totais, embriões grau 1, embriões degenerados, embriões transferíveis e embriões congeláveis. O experimento mostra que a SPO realizada com eCG 2000UI pode ser uma boa alternativa para o tratamento superovulatório em doadoras Nelore.

Em um experimento realizado por Baruselli *et al*. (2001), com 105 vacas de corte, comparando o uso de BE e E-17B, todas as vacas receberam dispositivo DIB-V® e 50 mg de P4 no D0, sendo que metade recebeu juntamente uma dose de 2,5 mg E-17ß e a outra metade 2,5 mg de BE. Os tratamentos de SPO foram iniciados no D4. As vacas receberam a 1ª dose de PGF2α no D7 e a segunda no D8 juntamente com a retirada do implante. Todas as vacas foram inseminadas 48 a 60 horas após a retirada do DIB-V®. O trabalho não demonstrou diferenças sobre o número de embriões coletados e na qualidade embrionária entre os grupos.

Wünsche *et al*. (2006), em seu experimento com 16 vacas Nelore, realizou a SPO com inserção de um dispositivo intravaginal de P4 1,9 g (CIDR®) pela manhã e, 24 horas após, administrou 2,5 mg de BE (Estrogin®) IM. No período entre os 5° e 8° dias após o início do tratamento, os animais receberam 250 UI de FSH (Pluset®) IM em doses decrescentes; 48 e 60 horas após a primeira aplicação de FSH, foram administrados 25 mg de dinoprost IM (Lutalyse®). Os dispositivos de P4 foram retirados, junto com a última aplicação de dinaprost. As IAs foram 12 e 24 horas

após o início das manifestações estrais. As lavagens foram realizadas no 7° e 8° dia após as IAs e se obteve um total de 169 estruturas.

Com finalidade de observar a melhor resposta sobre 1 ou 2 IAs em protocolos de SPO, Martins *et al.* (2006a) realizou um experimento com vacas Nelore (n=10) divididas homogeneamente em dois grupos (Quadro 5).

DO	D4	D5	D6	D7	D8	
DIB+ BE	FSH	FSH	FSH+ PGF2α	FSH	LH	G1-1 IA 16 horas após o LH
	FSH	FSH	FSH	FSH + remoção do DIB		G2- 2 IAs , 12 e 24 horas após o LH

QUADRO 5: Esquema prático de SPO em vacas Nelore utilizado testando 1 ou 2 IAs.
Fonte: Adaptado de MARTINS et al. 2006a.

Os animais receberam um dispositivo intravaginal de P4 (DIB®) associado a 2 mg de BE (Ric BE®) no D0. A SPO com FSHp (133mg, Folltropin®) teve início no D4 (oito doses decrescentes de 12 em 12 horas). No D6, administrou-se uma dose de PGF2α (Prolise®). Os dispositivos de P4 foram removidos 36 horas após a aplicação de PGF2α e o LH (25 mg de LH, Lutropin-V®) foi aplicado 48 horas após a PGF2α (12h após o último FSH). As IAs foram realizadas 16 horas após o LH no G1 e 12 e 16 horas após o LH no G2. Foi concluído neste experimento que não houve diferença significativa na produção de embriões viáveis quando se utilizou uma ou duas IAs em doadoras Nelore realizadas SPO e IATF, quando se obtiveram 4,3±0,7 e 4,2±0,6 embriões transferíveis respectivamente no G1 e G2.

A indução da ovulação após o último tratamento com FSH e a retirada do dispositivo de P4 são diferentes para doadoras zebuínas e taurinas. Em vacas de leite de alta produção, os autores relatam melhores resultados quando a indução da ovulação com pLH é feita 24 horas após a última injeção de FSH (ou 60 horas após a aplicação da PGF2α). Em zebuínos, o melhor momento para indução de ovulação

com pLH é de 12 horas após a última dose de FSH (ou 48 horas após a aplicação da PGF2α) (SOUZA, 2006a).

Segundo Manual técnico da Tecnopec o protocolo para SPO para doadoras taurinas consiste em aplicar no dia do inicio do protocolo (zero) 3ml de BE (Ric-BE®) e inserir um dispositivo de liberação de P4 (Primer®), no D4 iniciar a SPO com 8 doses de FSH (Folltropin®) aplicadas de 12/12 horas, no D6 as 18horas se usa PGF2α (Prolise®),no D7 às 18 horas se retira o dispositivo de liberação de P4, no D8 as 18 horas usa-se LH (Lutropin®), no D9 se faz duas inseminações sendo uma as 6 horas e outra as 18 horas. A coleta dos embriões é realizada no D15 (Quadro 6).

Protocolo de SPO doadoras taurinas							
D0	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D15
3ml Ric-BE + Primer	Folltropin 12/12h	Folltropin 12/12h	Folltropin 12/12h + 18 horas Prolise	Folltropin 12/12h + 18 horas retira Primer	18 horas Lutropin	IA 6 horas + IA 18 horas	coleta

QUADRO 6: Esquema prático de SPO para doadoras taurinas recomendado pela Tecnopec.
Fonte: TECNOPEC, 2007.

Já o protocolo recomendado pela mesma empresa para SPO em doadoras zebuínas é diferente das doadoras taurinas, onde o indutor de ovulação (LH) é aplicado com 12 horas de antecedência e as IAs também são adiantadas 12 horas em relação às doadoras taurinas (Quadro 7).

Protocolo de SPO doadoras zebuínas							
D0	D4	D5	D6	D7	D8	D9	D15
3ml Ric-BE + Primer	Folltropin 12/12h	Folltropin 12/12h	Folltropin 12/12h + 18 horas Prolise	Folltropin 12/12h + 18 horas retira Primer	6 horas Lutropin + IA 18 horas	IA 6 horas	coleta

QUADRO 7: Esquema prático de SPO para doadoras zebuinas recomendado pela Tecnopec.
Fonte: TECNOPEC, 2007.

Portanto é demonstrado que se pode superovular uma doadora com o mesmo protocolo de SPO até certo ponto, onde a partir do D8 esse protocolo terá que ser modificado dependendo da doadora, se for taurina após a aplicação de PGF2α se terá 48 horas para usar o indutor de ovulação (LH) e 60 horas para iniciar a primeira IA. E em relação a retirada do dispositivo de liberação de P4, tem-se 24 horas para induzir a ovulação e 36 horas para iniciar a IA. No caso de doadoras zebuínas para se conseguir melhor resultado tem que após a aplicação de PGF2α dentro de 36 horas já utilizar o indutor de ovulação (LH) e em 48 horas já realizar a primeira IA. Baseando na retirada do dispositivo de liberação de P4, o indutor de ovulação (LH) é aplicado 12 horas após, e a primeira IA é realizada 24 horas após, adiantando-se 12 horas em relação às doadoras taurinas.

5 DISCUSSÃO

Atualmente, o Brasil possui mais de 190 milhões de cabeças de gado, e 80% possuem sangue zebuíno. Com a demanda exacerbada de carne bovina, é preciso reproduzir animais de qualidade para suprir o mercado nacional e internacional. O desenvolvimento científico e tecnológico está contribuindo para isto. Mas se tem visto que a fisiologia dos animais *Bos taurus indicus* tem pontos a serem abordados com maiores detalhes, pois contradições são mostradas em alguns tópicos.

Com o estudo da fisiologia do *Bos taurus indicus*, especificamente, haverá melhoras nos índices de reprodução, pelo aprimoramento do uso de biotecnologias ligadas à reprodução.

Segundo Aiello (2001), a duração do estro na vaca dura em média 18 horas. Estudos mais recentes mostram que o estro no *Bos taurus indicus* é mais curto. Segundo Baruselli, Gimenes e Sales (2007), os *Bos taurus indicus* apresentam cio em média de 10 horas e ainda 50% dos animais, desse grupo genético, apresentam cio entre as 18h e 6h, dificultando a observação.

Se a ovulação dos bovinos é regulada conforme o final do estro (10 a 12 horas após o final), também teria que diferenciar o horário da IA aos *Bos taurus indicus*, pois com o encurtamento do estro também a ovulação ocorrerá algumas horas antes.

As ondas de crescimento foliculares são estudadas por vários autores e pode-se ver que dentro do mesmo grupo genético há muitas diferenças encontradas.

Segundo Hafez (1995), nos bovinos a maior incidência na dinâmica folicular é de duas ondas de atividade ovariana por ciclo estral.

As ondas foliculares nos *Bos taurus indicus* são relatadas por Baruselli, Gimenes e Sales (2007) com presença de três e quatro ondas, com incidência de três ondas por ciclo estral.

Barros e Nogueira (2001) relataram que, nos *Bos taurus indicus*, a incidência maior é de duas ou três e raramente podem ocorrer duas ou quatro ondas. Porém Viana *et al.* (2000), em um trabalho com animais da raça Gir (n=15), observaram a maior incidência de três e quatro ondas de crescimento folicular.

Dode *et al.* (2000) haviam relatado que os animais zebuínos têm menores números de folículos por ovário; porém mais recentemente, Baruselli, Gimenes e

Sales (2007) relataram que os animais *Bos taurus indicus* recrutam maior número de folículos por onda de crescimento folicular e isso pode ser relacionado à elevada concentração de IGF.

Nasser (2006) também observou que vacas Brahman (*Bos taurus indicus*) têm maiores concentrações de IGF e que a maior concentração de folículos por ovário, encontrados em Brahman, poderia estar relacionada ao IGF. Pois, segundo Shoenau et al. (2005), o IGF tem diversas ações sobre a atividade ovariana incluindo sinergismo e a amplificação dos efeitos das gonadotrofinas, no crescimento e na esteróidogênese, bem como na dominância folicular.

Segundo Nasser (2006), os animais *Bos taurus indicus* apresentam diâmetros máximos do FD (10 a 12 mm) e do CL (17 a 21 mm), menores do que o diâmetro característico de animais *Bos taurus taurus* que apresentam o FD de 14 a 20 mm e o CL de 20 a 30 mm.

Reyes (2005), em seu estudo sobre ondas de crescimento folicular anovulatórias em Gir, com cada onda apresentando um folículo dominante e um variável número de outros menores (subordinados), mostrou que as ondas menores ou iguais à 12 dias, entre 13 a 16 dias e maiores ou iguais a 17 dias, os tamanhos dos folículos apresentaram respectivamente a média de 9,4 mm, 10,4 mm e 11,6 mm.

Para a técnica de controle do ciclo estral e SPO, são recomendados vários protocolos, e cada técnico utiliza uma maneira diferente. Há varias mudanças nos dias de inicio do protocolo, onde é relatado a SPO através da utilização da detecção do cio base e a SPO através do uso de dispositivo de liberação de P4 juntamente com aplicação de E2, mudanças no horário de aplicações de hormônios, nos tipos de aplicações, quantidades de aplicações, doses utilizadas e cada um mostra seu resultado em determinadas raças.

Nos protocolos, muitos autores (HAFEZ, 1995; BÉNYEI, 2000; AIELLO, 2001; PFEIFER, CORREA E PINESCHI, 2005; MARTINS *et al.,* 2006b; SOUZA, 2006) tem relatado o uso de eCG para se conseguir a SPO, porém Souza (2006) conclui que mais experimentos serão necessários para avaliar o uso deste hormônio devido a formação de anticorpos contra o eCG e uma possível diminuição na resposta superovulatória nos animais.

Segundo Aiello (2001), a SPO baseada no estro deve ser entre o 9° e 12° dia do ciclo estral. Bó *et al*. (2001), Bényei (2000), e Pfeifer; Correa e Pineschi (2005)

relatam a SPO entre o 8° ao 12° dia. Já Renesto (2004) utilizou o tratamento entre o 9° e 12° dia e Visintin *et al.* (1999), Fonseca *et al.* (2001) e Rasi (2005), utilizaram a SPO com o início a partir do 10° dia do ciclo estral.

Durante o tratamento de SPO, a aplicação de PGF2α para induzir a luteólise é recomendada por Rasi (2005) e Bényei (2000) no 3° dia. Diferenciando, Gonsalves (2001) recomenda no 4° dia. Já Aiello (2001) e Fonseca et al (2001) dizem que a indução pode ser no 3° ou 4° dia da SPO.

Bó *et al.* (2001) avaliou os métodos de SPO tradicional comparando com o método que utiliza dispositivos de liberação de P4 juntamente com aplicação de E2 concluindo após o experimento, que a resposta foi similar tanto em gado de leite quanto de corte. Porém Ribeiro Filho (2004) avaliou em zebuínos o protocolo contendo P4 + BE e o método utilizando cio base por meio da aplicação de cloprostenol com duas doses com intervalo de 14 dias, iniciando a SPO no 9° ou 10° dia e concluiu que o método utilizando P4 + BE se obteve maior número de estruturas recuperadas e embriões viáveis.

A indução da ovulação nas doadoras utilizando o LH é recomendada por Souza (2006b) em *Bos taurus taurus* 60 horas após a aplicação de PGF2α ou 24 horas após a ultima aplicação de FSH. Já no protocolo presente no manual técnico da Tecnopec em *Bos taurus taurus é* recomendada aplicação de LH 48 horas após a aplicação de PGF2α ou 24 horas após a última aplicação de FSH.

Em *Bos taurus indicus,* Souza (2006b) recomenda a indução da ovulação com LH, 48 horas após a aplicação de PGF2α ou 12 horas após a última aplicação de FSH. No manual técnico da Tecnopec é recomendado o LH para zebuínos 36 horas após PGF2α ou 12 horas após o ultimo FSH.

Segundo o protocolo do manual técnico da Tecnopec a indução da ovulação com LH acontece 12 horas mais tarde nos taurinos em relação aos zebuínos. A a IA é baseada no indutor de ovulação, ocorrendo tanto em taurinos quanto zebuínos 12 horas após a aplicação de LH. Esse protocolo recomendado pela tecnopec indica a utilização de 2 IAs.

Martins *et al.* (2006a) realizou em seu experimento com animais *Bos taurus indicus,* o uso de somente uma IA 16 horas após o indutor de ovulação e observou não haver diferença significativa entre 2 IAs, 12 e 24 horas após o LH e 1 IA, 16 horas após o LH. Porém o dispositivo de P4 foi removido 36 horas após a aplicação de PGF2α e o LH foi aplicado 48 horas após a PGF2α (12h após o último FSH),

enquanto que no manual técnico da Tecnopec é indicado a retirada do dispositivo de P4, 24 horas após a aplicação de PGF2α.

Enfim, nota-se recentemente que existem inúmeros métodos para se realizar a SPO, nos quais se pode obter bons resultados utilizando-se protocolos com P4 + E2 ou utilizando-se o cio base.

Porém tem-se a vantagem de iniciar protocolos com P4 + E2 em fase aleatória do ciclo estral e obter mais segurança em relação à sincronização do estímulo superovulatório com o início de uma onda folicular (na ausência de folículo dominante), em Comparação ao método da observação do cio base.

Outra vantagem dos protocolos utilizando P4 + E2 é de se ter possibilidade de incluir maior número de animais nos programas de SPO ao mesmo tempo.

6 CONCLUSÃO

O Brasil que tem uma grande demanda na cadeia produtiva da carne, necessita de uma produção de animais de qualidade em grande escala.

Com a utilização de biotécnicas da reprodução, se tem um aumento na possibilidade de atingir a meta imposta pelo mercado.

O estro de animais *Bos taurus indicus* é mais curto em relação ao *Bos taurus taurus.* O tamanho de FD e do CL em fêmeas zebuinas mostra um menor diâmetro em comparação às fêmeas às fêmeas *Bos taurus taurus.*

Em relação ao número de ondas foliculares por ciclo estral, parece haver uma diferença racial nas fêmeas zebuínas. A maior incidência é de 2 a 4 ondas por ciclo, em geral.

Os hormônios utilizados para promover a SPO é o FSH ou o eCG. Os métodos utilizados para conseguir uma resposta superovulatória, são baseados na detecção do cio natural ou na utilização de fontes de P4 e E2.

A utilização de E2 e P4 possibilita a sincronização da aplicação da droga superovulatória com o recrutamento de uma nova onda folicular e sem presença de um FD, melhorando substâncialmente a resposta superovulatória, tanto em fêmeas zebuínas quanto taurinas.

O fato do estro de fêmeas zebuínas ser mais curto em relação a taurinas e a ovulação ser regulada conforme o fim do estro, resulta em diferenças nos protocolos utilizados para SPO. Essa diferença é observada em relação ao indutor de ovulação (LH) e a IA que são utilizados nos protocolos atuais com um adiantamento de 12 horas nos zebuínos em relação aos taurinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIELLO, S. E. **Manual Merck de Veterinária**. Sistema Reprodutivo - introdução. 8 ed. São Paulo: Roca, 2001. 1861p.

ALVAREZ, R. H.; PIRES, R.M.L.; MARTINEZ, A.C. Resposta Ovariana e Produção de Embriões de Vacas Superovuladas com Pluset ou Folltropin em Dose Única Subcutânea. **Acta Scientiae Veterinariae**, Nova Odessa-SP, v. 34(Suplemento 1), 2006.

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H.; COSTA NETO, W.P.;GRANDINETTI, R.R.; BÓ, G.A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. **Theriogenology.** v. 55, p. 157 (abstr.), 2001**.**

BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L. F.; NOGUEIRA, M. F.; BARROS, C. M.; BÓ, G. A. Superovulation and embryo transfer in *Bos taurus indicus* cattle. **Departament of Animal Reproduction, FMV-USP**. São Paulo-SP, v.7. n. 65, p. 77-88. Jan. 2006.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Revista Brasileira de Reprodução Animal. **Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas,** Belo Horizonte, v.31, n.2, p.205-211, abr./jun. 2007. < www.cbra.org.br >. Acesso em: 20. Jul. 2007.

BARROS, C.M.; NOGUEIRA, M. F.G. Theriogenology. **Embryo Transfer in *Bos indicus* catlle**. Botucatu, SP, V. 56, n 9, Pg 1483-1496, 2001. Disponível em:< http//www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=pubmed&listuids=11768812&cmd=retrieve&indexed=google >. Acesso: em 07 jul. 2007.

BÉNYEI, B.; BARROS, C.C.W. Efeito da superovulação sobre o desempenho de bovinos doadores de embrião importados de clima temperado para clima tropical nos dois primeiros anos de adaptação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, ed. 4. 2000. Disponível em: <http//www. doaj.org/doaj? func =abstract&id=27493&toc=y> Acesso em: 28 jul. 2007.

BÓ, G.A.; TRÍBULO, H.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. **Theriogenology.** v. 55, p. 357 (abstr), 2001**.**

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; ROCHA JUNIOR, V.R.; RUAS, J.R.M.; CARVALHO, G.R. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.5, p.1-13. 2001.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; ROCHA JUNIOR, V.R.; RUAS, J.R.M.; GIOSO, M.M.; FONSECA, J.F.; CARVALHO, G.R.; MAFFILI,.V.V. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.56, n.3, p.346-354, 2004.

CAPOVILLA, L.C.T.; KOZICKI, L.E.; VELLIOS, M.S.; CABRAL, M.M. Technology and economic viability of twin pregnancy production in nelore breed by embryo transfer. **Archives of Veterinary Science** , Curitiba, v.5, p.117-127, 2000.

CUNNINGAM, J. G. Ciclos Reprodutivos. In: AUTUMN, P.; GEORGE, H. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2 ed. Rio de janeiro: Guanabara Koogan S.A.,1999. Cap. 36, p.368-376.

CASTILLO, J.C. **Participação da indústria de carnes na economia brasileira e mundial- cadeia produtiva da carne**: Anuário da Pecuária Brasileira ANUALPEC-FINEP. Esalq, 2005. Disponível em:< http://www.esalq.usp.br/ > . Acesso em: 08 jul. 2007.

CONTINI, E. **Projeções do Agronegócio Mundial e Brasil 2006/07 a 2016/17**. 2006. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/MENU LATERAL/AGRICULTURA PECUARIA/PROJEÇOES AGRONEG OCIO/CENARIOS%20DO%20AGRONEGOCIO%202006-2007%20A%202016-2017%20A1.PDF >. Acesso em: jul. 2007.

DODE, M.A. N.; RODOVALHO, N. C.; UENO, V.G.; ALVEZ, R.G.O. Efeito do tamanho do folículo na maturação nuclear e citoplasmática de ovócitos de fêmeas zebuínas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília. v. 35 n. 1 Jan. 2000.

FÊO, J. C. S. A. Comportamento cíclico estral de fêmeas bovinas mestiças taurinas versus zebuínas nulíparas. **UNOPAR Cient., Ciênc. Biol. Saúde**, Londrina, v. 1, n. 1, p. 19-24, out. 1999.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development : the role of the follicular microenvironment in selectionof the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.109-126, 2004.

FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M; PINTO NETO, A.; PALHARES,M.S. Estádios de desenvolvimento embrionário de vacas zebuínas superovuladas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec,** v.53 n.6 . 2001.

FRANCI, A. J.; FRANCI, C.R.; LUCION, A.B.; SANVITTO, G. Controle neuroendócrino e efeitos do estresse. Sistema Reprodutor Feminino. **Projeto Temático – FAPESP**, p. 1-28, 1999.

FLORIANI, A. R. **Efeito de progesterona e benzoato de estradiol na dinâmica folicular e produção *in vitro* de embriões bovinos**. Universidade Federal de Minas Gerais Escola de Veterinária Programa dos Cursos de Pós-Graduação, 2006. Tese (Doutorado)- apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F. X.; BERGEFELT, D. R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.239-257, 2003.

GONSALVES, P.B. Transferência e Criopreservação de embriões Bovinos. In: REICHENBACH, H. D. et al. **Biotécnicas Aplicadas a Reprodução animal**. 1. ed. São Paulo: Varela, 2001. cap. 8, p.127-178.

GONZÁLEZ, F.H.D. **Homonioterapia na reprodução:** p. 18. 2002. Disponível em: < www.ufrgs.br/favet/bioquimica.18p. 2002 >. Acesso em: 30. jul. 2007.

GRADELA, A.; MALHEIROS, R.; URBINATTI, E. C.; BARBOSA , J.C.; ALMEIDA, J. I. L.; ESPER, C. R. Influence of the dominant follicle on the ovarian follicular dynamics in Nelore cows treated with FSH. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal SciencePrint ISSN 1413-9596Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci,** São Paulo**,** vol.37, n.4. 2000.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução animal:** 4ª ed. São Paulo : Manole, 1982. p.720.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**: Reprodução dos Animais Domésticos. 6ª ed. Rio de Janeiro: MIR Assessoria Editorial Ltda. 1995. p. 582.

HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**: Reprodução dos Animais domésticos. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996. p. 726.

KING; KIRACOFS; BERARDINELLI; ADAIR. Sistemas de produção. **Representação esquemática das variações, na concentração dos principais hormônios que regulam o cicio estral em bovinos.** Embrapa Gado de Corte. V. 3. Dez. 2006. Disponível em: < http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTLM/Bovino Corte/BovinoCortePara/paginas/reproducao.html > . Acesso em: 30. jul. 2007.

LOPES, B.M.A.; REZENDE, E.M.M.de. ”ABCZ História e Histórias”. **História**, 2001. disponível em: < http://www.abcz.org.br/site/abcz/historico.php >. Acesso em: jul. 2007.

MARTINS, C.M.; SÁ FILHO, M.F.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Efeito do número de inseminações na produção de embriões em vacas nelore (*Bos indicus*) superovuladas e inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, São Paulo, v. 34. (suplemento). 2006a.

MARTINS, C.M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; GIMENES, L.U.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Superovulação com eCG ou FSH em doadoras Nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae** 2006b; 34 (Suppl 1):527 (abstract).

MARTINS, C.M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Adequação da dose de FSH ovino em protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo para doadoras da raça nelore (*Bos indicus*). **Acta Scientiae Veterinariae** , São Paulo, v. 34. (suplemento). 2006c.

MANUAL TÉCNICO TECNOPEC; **Protocolo de superovulação para doadoras taurinas**. Tecnopec, 2007. Disponível em: < http: www.tecnopec.com.br > . Acesso: em jul. 2007.

MANUAL TECNICO TECNOPEC; **Protocolo de superovulação para doadoras zebuínas**. Tecnopec, 2007. Disponível em: < http: www.tecnopec.com.br > . Acesso: em jul. 2007.

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

NASSER, L. F. T. **Resposta superovulatória na primeira onda de crescimento folicular em doadoras Nelore (*Bos taurus indicus*).** 2006, 80f. tese (Doutorado) - USP . FMVZ. Departamento de reprodução animal, São Paulo.

PETERS, A.R.; BALL, P.I.J. **Reprodução em bovinos.** 3ª ed. São Paulo: Roca, 2006. 232 p.

PRESTES, N. C.; ALVARENGA, F.C.L. Fecundação e Clivagem. In: ALVARENGA, F.C.L. **Obstetrícia Veterinária**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 1, p. 1-19.

PEIXOTO, M.G.C.D.; FONSECA, C.G.; PENNA, V.M.; ALVIM, M.T.T. Multivariate analysis of multiple ovulation followed by embryo transfer results from zebu donors. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** Vol, 54 n. 5, Belo Horizonte Oct. 2002. Disponivel em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sciarttex&pid=S0102-09352002000500007&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >. Acesso em 25. jul. 2007.

PFEIFER, L. F. M.; CORRÊA, M. N .; PINESCHI, L. E. **Universidade Federal de Pelotas**: Alternativas hormonais para programas de transferência de embriões em bovinos, Faculdade de Veterinária, 2005. Disponível em: < www.ufpel.tche.br/hcv >.Acesso em: 29. jul. 2007.

RASI, F. P. A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos.** 2005. 27f. Dissertação (mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu.

RAMOS, A.A.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A.; POLISSENI, J.; HENRY, M. Effect of somatotropin on follicular population, oocyte retrieval and in vitro embryo production in Gir cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n.2, Mar./Abr. 2007.

RENESTO, A. **Associação das biotécnicas: aspiração folicular guiada por ultra-sonografia e superovulação na produção in vitro e in vivo de embriões bovinos**. 2004. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita" - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Jaboticabal - SP.

REIS, E. L. Reprodução Animal: **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica eqüina no protocolo de sincronização da ovulação para T. E. T. F**. 2004. 101f. Dissertação (Mestrado) - FMVZ departamento de Reprodução animal, São Paulo.

REICHENBACH . Transferência de Embriões: **Reprodução**, 2002. Disponível em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/BovinoCorte/BovinoCortePara/paginas/reproducao.html >. Acesso em: 06 jul. 2007.

REYES, L. A.; REIS e SILVA, A. R.; GAMBARINI, M. L.; RUMPF, R.; OLIVEIRA, C.C.; FILHO, O. D. D. Study of follicular dynamic by real-time ultrasound inprepuberal Gir heifers. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, Goiânia – GO. Vol. 13, n. 2, p. 51- 55, Mayo-Agosto, 2005.

RIBEIRO FILHO, A. L.; BITTENCOURT, R.F.; PORTELA, A.P.M.; FREITAS, D.S.; ALMEIDA, A.K.; SILVA, A.A.B.; SANTANA, R.C.M.; CHALHOUB, M. Efeito do Protocolo de Sincronização do Ciclo Estral sobre a resposta Superovulatória em um programa de Transferência de Embriões Zebuínos. **Acta Scientiae Veterinariae** , Salvador-BA ,v. 32 (Suplemento), 2004.

SHOENAU, W.; PORCIÚNCULA, P. M.; ZAMBERLAN, G.; MESQUITA, F. S.; VIEIRA, V.; OLIVEIRA, J. F. C.; GONÇALVES, P. B. D. Associação entre polimorfismos do gene IGF-IR e características produtivas e reprodutivas em fêmeas bovinas da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,** Santa Maria-RS, v.57, n.6, p.772-776, 2005.

SANTIAGO, A, A. O que é Zebu: **A história do zebu no Brasil**, 2006. Disponível em:<http://www.zebuonline.com.br/pt/quem_somos/zebu.php>. Acesso em jul. 2007.

SEGUI, M. S. Reprodução animal. **Reprodução de bovinos de corte e sua viabilidade comercial no Brasil**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.224-226, abr./jun. 2007. Disponível em:<http://www.cbra.org.br/pages/publicações/rbra/download/anaisCBRA17.pdf>. Acesso em 6 de jul. 2007.

SOUZA, A. de. H. **Novas estratégias de superovulação em zebuínos: parte 1.** Beef point, 2006a. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/?noticiaID=30586&actA=7&areaID=60&secaoID=181#carta > . Acesso em: 01 set. 2007.

SOUZA, A. de. H. **Novas estratégias de superovulação em zebuínos: parte 2.** Beef point, 2006b. Disponível em: < C:\Documents and Settings\Usuario\Meus documentos\Novas estratégias de superovulação em zebuínos parte 2 - Radares Técnicos - Reprodução - BeefPoint - O ponto de encontro da cadeia produtiva da carne.htm> . Acesso em 01 set. 2007.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M. de.; SÁ, W. F. de.; CAMARGO, L. S. A. de. Follicular dynâmics in zebu catlle. **Pesquisa Agropecuária**, Brasília, V, 35, n.12, p.2501-2509, dez. 2000.

VISINTINI, J.A.; ARRUDA, R. P.; MADUREIRA, E. H.; MIZUTA, K.; CELEGHINI, E. C. C.; ASSUMPÇÃO. M. E. O. D.; GUSMÕES, P. P. G.; CANDINI, P. H. Superovulação de novilhas da raça Nelore com diferentes doses de FSH/LH e congelação de embriões pelo método *one-step* com etilenoglicol. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci,** v.36 n.5. 1999.

WÜNSCHE, J.A.G.; BARREIROS, T.R.R.; BEZERRA, G.A.; AZEVEDO, J.R.; OLIVEIRA, A.C.S.; SENEDA, M.M. Viabilidade de duas lavagens uterinas, no sétimo e oitavo dia, após IA em vacas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae** , londrina, v. 34. (Suplemento 1). 2006.