

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

LAÍS ÂNGELO DE ABREU

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO
“APLICAÇÕES DO COLOR-DOPPLER NO CONTROLE REPRODUTIVO DE
FÊMEAS BOVINAS: Ressincronização superprecoce”**

ARAGUAÍNA - TO
2017

LAÍS ÂNGELO DE ABREU

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO
“APLICAÇÕES DO COLOR-DOPPLER NO CONTROLE REPRODUTIVO DE
FÊMEAS BOVINAS: Ressincronização superprecoce”**

Relatório apresentado à Escola de
Medicina Veterinária e Zootecnia, como
requisito parcial para obtenção do grau de
Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Gianordoli Teixeira Gomes
Supervisor: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

ARAGUAÍNA - TO
2017

Abreu, Laís Ângelo de

Aplicações do Color-Doppler no controle reprodutivo de fêmeas bovinas: Ressincronização superprecoce / Laís Ângelo de Abreu . -- Araguaína: [s.n], 2017.

106f.

Orientador, Prof. Dr. Márcio Gianordoli Teixeira Gomes
Relatório de Estágio Curricular (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Tocantins, 2017.

1. Reprodução bovinos. 2. Ressincronização. I. Título

Reitor
Sr. Luiz Eduardo Bovolato

Pró-Reitoria de Administração e Finanças
Sr. Jaasiel Lima

Pró-Reitoria de Avaliação e Planejamento
Sr. Eduardo Andrea Lemus Erasmo

Pró-Reitoria de Extensão, Cultura e Assuntos Comunitários
Sra. Maria Santana Milhomem

Pró-Reitoria de Graduação
Sra. Vânia Maria de Araújo Passos

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Sr. Raphael Sanzio Pimenta

Coordenador do Curso de Medicina Veterinária
Prof. Jorge Luís Ferreira

ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA (UNIDADE EMVZ)
BR-153, Km 112, s/n°. Caixa Postal 132
CEP: 77804-970 - Araguaína - TO
Telefone: (63) 3416-5601

LAÍS ÂNGELO DE ABREU

**RELATÓRIO DE ESTÁGIO CURRICULAR SUPERVISIONADO
“APLICAÇÕES DO COLOR-DOPPLER NO CONTROLE REPRODUTIVO DE
FÊMEAS BOVINAS: Ressincronização superprecoce”**

Relatório apresentado ao Curso de Medicina Veterinária, na Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal do Tocantins, como requisito parcial para obtenção do grau de Médica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Gianordoli Teixeira Gomes
Supervisor: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

Aprovado em: 30/11/2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. D.Sc. Márcio Gianordoli Teixeira Gomes
EMVZ/UFT
Orientador

D.Sc. Leandro Rodello
Pós-Doutor em Reprodução Animal

M.V. André Luiz Mancini Carreira
Bos Assessoria e Pecuária
Médico Veterinário

Dedico este trabalho aos meus pais,
Adriana e Ângelo, pelo amor e
confiança depositada em mim, ao
longo dessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela dádiva da vida e auxílio que me conduz a evolução intelectual e espiritual; “a minh’alma glorifica ao Senhor, meu espírito exulta de alegria em Deus, meu Salvador, porque olhou para sua pobre serva.” (Lucas, 1:46). E à minha intercessora Nossa Senhora de Guadalupe, que sempre zelou por minhas orações.

À minha mãe Adriana, meu exemplo de perseverança, dignidade e honra. Responsável por realizar todos os meus sonhos e atender todos os meus anseios, inúmeras vezes abdicando-se das vontades próprias para proporcionar a mim e meu irmão o que não teve. A você mãe, minha eterna gratidão e amor. Sim, eu posso dizer que tenho a melhor mãe do mundo!

Ao meu pai Ângelo, íntegro modelo de disciplina e trabalho; obrigada pelos ensinamentos, por ajudar a construir meu futuro acadêmico, por apoiar minhas complexas viagens, atender minhas ligações na madrugada e orar por meus obstáculos.

Ao meu irmão Higor, meu fiel amigo e dono de um coração admirável. Obrigada por cuidar de mim todos esses anos, seu apoio foi essencial! E à minha pequena e amada Cacau (*in memoriam*), pela pureza e incontáveis alegrias concedidas a nossa família.

Ao meu amado namorado Thiago Resende pelo carinho e paciência. Obrigada por acreditar em mim, sonhar e incentivar meu progresso mesmo nos momentos de ausência. Tudo teve um propósito maior e espero que possamos conquistar muitas coisas juntos!

Aos meus avós Raimunda Cerqueira Abreu (*in memoriam*) e José Antônio de Abreu, pela transferência de valores humanos. Obrigada por sempre torcer pela minha felicidade.

Aos meus padrinhos Paulo e Telma, exemplos de caráter e empreendedorismo; o apoio de vocês foi fundamental para minha formação pessoal e profissional.

À minha Dindinha Olíndia que foi parceira durante toda minha vida, incentivando cada etapa de minha educação e aos meus tios Sebastião e Margareth, que abriram as portas da Fazenda Braúna – PA, para que eu pudesse estagiar e realizar experimentos.

Aos meus primos, companheiros dessa intensa caminhada. Em especial, minha admirável prima Aline, sempre presente em minha vida, principalmente nas etapas de muita superação; Camillinha, minha eterna confidente; Danilo, meu cientista e grande amigo.

À Dona Jesus, Seu Antônio, Pra. Meiry, Levi, Rebeca, Vitória e toda a família Rezende por me acolher com tanta ternura.

Ao Professor Dr. Márcio Gianordoli, meu orientador desde o início da graduação e querido amigo. A jornada não foi fácil, mas caminhando ao seu lado, aprendi o significado de ética, compromisso, comunicação e a apreciar um bom *Blues*; além de livros, maletas de couro, itens de madeira e muitas outras obras dignas de se presentear um orientado. Agradeço também à Professora Deborah, que além de abrir as portas de sua casa, foi líder nas atividades de extensão, compartilhando seu conhecimento na área da Nutrição Animal.

Ao Professor Dr. Pietro Sampaio Baruselli, por abrir as portas do Departamento de Reprodução Animal da Universidade de São Paulo e conceder o ensejo de aprender com detalhes a fisiologia da reprodução e as técnicas de sincronização para o emprego de biotecnologias em bovinos. Obrigada pelas inúmeras oportunidades de capacitação e confiança.

Aos acadêmicos de especialização do VRA (USP São Paulo); Badá (muito obrigada pelos longos dias em dedicação às planilhas e pelas instruções), Rômulo (obrigada pelos materiais disponibilizados), Guilherme, Walter, Marcos (obrigada por todo o conhecimento compartilhado), Flávia, Laísa e todos os estagiários também envolvidos. Sem a ajuda de vocês não seria possível desenvolver qualquer pesquisa. Obrigada pelas verdadeiras aulas e pelas boas risadas.

Ao Professor Dr. Guilherme Pugliesi, do VRA (USP Pirassununga); por permitir que eu pudesse acompanhar a rotina de avaliação reprodutiva através do método Color-Doppler. Aos acadêmicos de especialização de Pirassununga; amável Gabriela, invencível Cecília, Igor e Felipe. Obrigada por me acolherem tão bem e por não medir esforços em tirar minhas dúvidas.

Ao Professor Dr. Arlindo Alencar Araripe Moura, por receber nossa equipe na Universidade Federal do Ceará, compartilhando seu conhecimento na área da Proteômica, se tornando um grande parceiro nos trabalhos de Iniciação Científica. Aos meus queridos amigos, Arabela (a prodígio), Thiago, Monica e

Carlos do Laboratório de Fisiologia da UFC, obrigada pela total dedicação em ensinar.

Ao Professor Dr. Sílvio Menegassi e NESPRO (UFRGS), pela oportunidade de fazer parte de um grande trabalho científico e aprofundar os conhecimentos sobre Andrologia Animal durante a graduação.

Ao Professor Dr. Sandro Moron, pela parceria nos trabalhos de Iniciação Científica e ensinamentos. Obrigada pela confiança e por deixar o laboratório sempre à total disposição.

Ao estimado Professor Dr. Leandro Rodello, pelo verdadeiro dom em educar, pela acessibilidade e por acreditar em meus passos. Obrigada por compartilhar ideias e incentivar os projetos! Estou aguardando o Ultrassom prometido...

Aos professores da graduação que jamais serão esquecidos; Wallace, Ana Kelen, Jorge Ferreira (obrigada por comemorar comigo mesmo as pequenas conquistas!) Fabiano, Michel Helayel, Katyane e Ana Paula Ribeiro. Obrigada pelos conselhos e apoio durante esses anos.

Ao Médico Veterinário André Luiz Mancini Carreira, pelo exemplo de vida, pelas boas conversas e grandes oportunidades de trabalho. Obrigada por abrir tantas portas em minha vida... Seus conselhos sempre serão sábios e bem vindos!

Ao Médico Veterinário Luciano Penteado, por permitir o acompanhamento de seus experimentos no período de Estágio Curricular, pelo cuidado e todos os ensinamentos sobre cálculos e planilhas. Obrigada pela confiança e por dar-me uma chance de fazer a diferença.

À equipe Central Bela Vista (Botucatu - SP); Gerson Sanches, Rafael Rocha, Diego, Maza e Fabíola. Obrigada por me permitir conhecer cada detalhe dessa grande empresa, foi fantástico.

Aos incríveis amigos que pude encontrar durante essa caminhada, e felizmente foram muitos; amigos da universidade, três tambores, igreja, vizinhança... Um agradecimento especial à minha turma, *Boi&Mia*, especialmente às meninas, Ana Maria, Karen, Jamyne, Ranielly e Poliana, pela parceria em dividir os resumos das aulas e trabalhar em prol da formatura. À querida Laísa Mota, por sempre estar presente na minha vida pessoal e

acadêmica, e ao meu irmãozão Pedro Fumagalli; que admiro muito, meu parceiro para toda obra. Pessoal, como valeu!

Produtores rurais, gerentes, vaqueiros e demais contribuintes das propriedades; obrigada pelo espaço e cooperação.

E por fim, à Universidade Federal do Tocantins e todos os funcionários dessa instituição, que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Muito obrigada!

“É preciso coragem para ficar de pé e falar, mas também para sentar e ouvir.”
(Winston Churchill)

RESUMO

O Estágio Curricular Supervisionado foi realizado no Departamento de Reprodução Animal – VRA, da Universidade de São Paulo - SP. As atividades perfizeram um total de 488 horas, durante o período de 07 de Agosto a 31 de Outubro de 2017, na área de Reprodução de Bovinos e Bubalinos, sob a supervisão do Prof. Dr. Pietro Baruselli e orientação do Prof. Dr. Márcio Gianordoli Teixeira Gomes. As atividades desenvolvidas abrangeram o acompanhamento dos projetos de pesquisa executados pelos pós-graduandos. Foi realizado em duas propriedades, Fazenda Emphyreo, situada no município de Jacarezinho e Rancho Ouro Fino, situado em Astorga, ambos localizados na região norte do Estado do Paraná; um delineamento experimental em vacas de corte analisando a resposta da aplicação de P4i (Afisterone®) em diferentes dosagens (0 mg, 50mg e 100 mg), na ressincronização D14. Neste relatório serão abordadas todas as atividades desenvolvidas e vivenciadas na área de reprodução de bovinos, com enfoque na utilização da ressincronização superprecoce e ultrassonografia Color Doppler, principal para o acompanhamento do projeto de pesquisa intitulado: “Aplicações do Color-Doppler no controle reprodutivo de fêmeas bovinas: Ressincronização superprecoce”.

Palavras-Chave: Corpo lúteo, gestação, IATF, reprodução assistida, ultrassonografia.

ABSTRACT

The Supervised Curricular Internship was held at the Department of Animal Reproduction - VRA, in University of São Paulo - SP. Activities totaled 488 hours, during the period from August 7 to October 31, 2017, in the area of bovine and buffalo reproduction, under a supervision of Prof. Dr. Pietro Baruselli and orientation of Prof. Dr. Márcio Gianordoli Teixeira Gomes. The realized activities consisted in monitoring research projects from pos-graduate academics. It was carried out in two properties, Emyreo farm, located in the municipality of Jacarezinho and ranch Ouro Fino, located in Astorga, both in the northern region of the State of Paraná; an experimental design in beef cows, performed by analyzing the response of the application of P4i (Afisterone®) in different dosages (0 mg, 50 mg and 100 mg) in D14 resynchronization. This report addresses all activities experienced about cattle reproduction, with a focus on the use of super-precocious resynchronization and Color Doppler ultrasonography, the main one to follow the research project entitled "Applications of Color-Doppler use in reproductive control of cows: Super-precocious resynchronization".

Keywords: Corpus luteum, FTAI, gestation, assisted reproduction, ultrasonography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) (A). Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo (B).....	22
Quadro 2 - Laboratório da Biologia do Espermatozoide (A) e sala de esterilização (B).....	23
Quadro 3 - Laboratório de Fecundação <i>In Vitro</i> (A). Laboratório de Clonagem e Transgenia Animal (B).....	23
Quadro 4 - Laboratório de Dosagens Hormonais.....	24
Quadro 5 - Preparação de kits para transferência de embriões à campo (A). Organização de tubos para pipetagem (B).....	28
Quadro 6 - Animais do Instituto de Zootecnia (A). Avaliação ginecológica por intermédio de palpação transretal (B).....	30
Quadro 7 - Equipamentos utilizados no momento da Inseminação Artificial.	32
Quadro 8 - Materiais utilizados (seta) e disposição dos animais para a resincronização, após 22 dias de IATF, em vacas leiteiras.....	34
Quadro 9 - Realização de diagnóstico de gestação com Color-Doppler em vacas leiteiras.....	35
Quadro 10 - Búfalas em espera para receber DG (A). Diagnóstico de gestação de búfalas aos 30 dias, evidenciando a presença do embrião e circulação cardíaca (seta) (B).....	36
Quadro 11 - Fazenda Caçadinha (A, B, C) Fazenda União (D).....	37
Quadro 12 - Organização das amostras de sangue (A). Aparelho portátil de fotometria, quantificando o betacaroteno na amostra inserida (B).....	38
Quadro 13 - Fornecimento de propilenoglicol (A). Vaca holandesa experimental após ordenha (B).....	39
Quadro 14 - Sala de manipulação das amostras (A). Alíquotas, referentes às análises experimentais (B).....	40
Quadro 15 - Recepção da Central Bela Vista (A). Auditório para reuniões (B).....	42
Quadro 16 - Área dos piquetes dos touros (A). Central de Coleta de Sêmen (B). Touro e manequim no momento da coleta (C).....	43
Quadro 17 - Secadoras para vagina artificial (A). Estufa com as vaginas artificiais	

prontas (B).....	44
Quadro 18 - Luvas descartáveis especiais (A). Touro com capa (seta) ocular (B).....	45
Quadro 19 - Tronco de contenção hidráulico (A). Lavagem prepucial a base de Kilol-L® (seta) (B).....	45
Quadro 20 - Recipiente para transporte de sêmen (A, B). Duto subterrâneo (seta) (C).....	46
Quadro 21 - Contador (A) e painel de concentração espermática (B).....	47
Quadro 22 - Câmara fria (A). Formas contendo as palhetas em tanque de congelamento (B). Monitor indicando a progressão da curva (seta) de congelamento (C). Direcionamento das palhetas para as canecas (D).....	49
Quadro 23 - Recepção <i>In Vitro</i> Brasil (A). Galpão para alojamento dos clones (B).....	50
Quadro 24 - Sala de Produção de Meios de Cultivo (A). Laboratório de PIV (B).	51
Quadro 25 - Clone de bovino da raça Nelore (A). Clone de potro da raça Mangalarga Marchador (B).....	52
Quadro 26 - Vacas para produção de leite (A). Cal (seta) no solo dos piquetes para bezerros (B).....	52
Quadro 27 - Tratamento da água local (A). Utilização (seta) da água tratada em irrigação (B).....	53
Quadro 28 - Curral para realização da parte prática do curso (A). Total de 400 animais disponíveis para o curso (B).....	54
Quadro 29 - Equipamentos didáticos que constituíram a parte teórica do curso.....	55
Quadro 30 - Imagens de CL com área luteal >2cm ² , porém de animal não-gestante.....	70
Quadro 31 - Classificação da funcionalidade do CL de acordo com a Vascularização Central (VC) e Periférica (VP) obtidas por imagens ultrassonográficas em modo color Doppler.....	71
Quadro 32 - Quatro categorias possíveis observadas após o diagnóstico de gestação usando o fluxo sanguíneo do CL aos 20 dias após IATF. Positivo verdadeiro (A), falso positivo (B), falso negativo (C), e negativo verdadeiro (D).....	72

Quadro 33 - CL nos dias 13 (A), 15 (B), 17 (C) e 21 (D).....	75
Quadro 34 - Curral para manejo da Fazenda Empyreo (A). Produção de milho para silagem (B).....	77
Quadro 35 - Sal para as vacas paridas da propriedade (A). Animais experimentais (B).....	78
Quadro 36 - Curral para manejo da Fazenda Rancho Ouro Fino (A). Animais experimentais (B).....	78
Quadro 37 - Bastão de leitura para conferência dos animais no sistema (A). Cartões (seta) indicadores (B).....	79
Quadro 38 - P4 injetável utilizada no experimento (A). Condução dos animais D14 (B).....	81
Quadro 39 - Diagnóstico de funcionalidade do CL (A). Vaca com marcação por bastão (B). Inseminação artificial em tempo fixo (C). Corte da cauda de animais prenhes pelo diagnóstico superprecoce (D).....	82
Quadro 40 - Ultrassom <i>SonoScape</i> ® (S8), com tela <i>dual</i> para avaliação do CL (A). Anotações dos manejos diretamente no computador (B).....	83
Figura 1 - Bloco de aulas do curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo (2017).....	41
Figura 2 - Contador de células espermáticas, com a ilustração dos defeitos (seta).....	48
Figura 3 - Ministração teórica do curso.....	54
Figura 4 - Equipamentos didáticos que constituíram a parte prática do curso.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividades desenvolvidas durante o período de Estágio Curricular pela Universidade de São Paulo, período entre 07 de Agosto e 31 de Outubro de 2017.....	27
Tabela 2 - Mês de nascimento relacionado à taxa de prenhez em novilhas.....	60
Tabela 3 - Delineamento executado no experimento 'Efeito da aplicação de P4i CA (Afisterone®) em diferentes dosagens na taxa de prenhez em vacas de corte submetidas a ressincronização superprecoce'.....	80
Tabela 4 - Relação de valores de serviço (considerando 250 animais) entre protocolo de ressincronização convencional (30 dias) e protocolo de ressincronização Doppler (14 dias).....	90

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição das atividades desenvolvidas durante o Estágio Curricular no Departamento de Reprodução Animal, USP.....	28
Gráfico 2 - Evolução do abate de bovinos por trimestre (2012 – 2017).....	58
Gráfico 3 - <i>Ranking</i> e variação anual do abate de bovinos – Unidades da Federação Primeiros trimestres de 2016 e 2017.....	59
Gráfico 4 - Mercado da IATF no Brasil.....	61
Gráfico 5 - Exemplificação dos ganhos genéticos através do manejo reprodutivo de IATF.....	61
Gráfico 6 - Ilustração da ressincronização convencional (1), precoce (2) e superprecoce (3).....	74
Gráfico 7 - Delineamento do primeiro trabalho com ressincronização superprecoce.....	75
Gráfico 8 - Delineamento experimental, totalizando uma EM com 48 dias.....	79
Gráfico 9 - Representação da taxa de prenhez das propriedades, por manejo.....	84
Gráfico 10 - Representação de concepções com base no grupo experimental, por propriedade.....	85
Gráfico 11 - Relação de prenhezes por ECC, manejo de IATF e primeira ressincronização.....	87
Gráfico 12 - Relação de prenhezes com base no tamanho do folículo no D22 (Doppler) do manejo anterior.....	88
Gráfico 13 - Eficiência reprodutiva de vacas Nelore lactantes submetidas à ressincronização com início 14 dias após prévia IATF (2 IATF's em 24 dias).....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

ASBIA	Associação Brasileira de Inseminação Artificial
BE	Benzoato de Estradiol
BEN	Balanço energético negativo
BHBA	Beta-hidroxi-butirato
CA	Curta ação
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Pessoal e Superior
CE	Cipionato de Estradiol
CEP	Código de Endereçamento Postal
CL	Corpo Lúteo
cm	Centímetro
cm/seg	Centímetro por segundo
cm²	Centímetro quadrado
CNAE	Classificação Nacional de Atividades Econômicas
D14 (/núm.)	Dia 14
DEP	Diferença esperada na progênie
DG	Diagnóstico de Gestação
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
Dr.	Doutor
ECC	Escore de Condição Corporal
eCG	Gonadotrofina Coriônica Equina
EDV	Velocidade diastólica final
EM	Estação de Monta
EMVZ	Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
et al.	Colaboradores
EUA	Estados Unidos da América
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FIV	Fertilização <i>In Vitro</i>
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GnRH	Hormônio liberador de Gonadotrofinas
I.M	Intramuscular
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IGF-1	Fator de crescimento semelhante à Insulina Tipo 1
IP	Índice de Pulsatilidade
IR	Índices de Resistência ou Resistividade
ISO	International Organization for Standardization
IVB	<i>In Vitro</i> Brasil
IZ	Instituto de Zootecnia
Kg	Quilograma
LA	Longa ação
LH	Hormônio Luteinizante
MG	Minas Gerais
mg	Miligrama
MHz	Megahertz
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Modo B	Modo brilho

MS	Mato Grosso do Sul
n	Número de animais
NEFA	Ácidos graxos não esterificados
NESPRO	Núcleo de Estudos em Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e Cadeia Produtiva
°C	Graus Celsius
P4	Progesterona
P4i	Progesterona injetável
PGF	Prostaglandina
PGF2α	Prostaglandina F2 α
PIVE	Produção <i>In Vitro</i> de Embriões
PR	Paraná
Prof.	Professor
PSV	Velocidade de pico sistólico
ROI	Retorno Sobre Investimento
SP	São Paulo
Sr.	Senhor
Sra.	Senhora
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
TETF	Transferência de Embriões em Tempo Fixo
TMVM	Tempo médio de velocidade máxima
TO	Tocantins
UFC	Universidade Federal do Ceará
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
UFT	Universidade Federal do Tocantins
UI	Unidades Internacionais
UNESP	Universidade Estadual Paulista
US	Ultrassom
USP	Universidade de São Paulo
VFS	Volume do fluxo sanguíneo
VRA	Departamento de Reprodução Animal

LISTA DE SÍMBOLOS

©	Copyright Sign
\geq	Maior ou igual a que
$>$	Maior que
®	Marca registrada
$\frac{1}{2}$	Meia parte
\leq	Menor ou igual a que
$<$	Menor que
*	Observação
%	Por cento
\pm	Variação para mais ou para menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	21
2	OBJETIVO GERAL.....	26
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	27
3.1	AVALIAÇÃO DE CICLICIDADE E/OU GINECOLÓGICA.....	29
3.2	PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO PARA IATF.....	31
3.3	PROTOCOLO DE RESSINCRONIZAÇÃO.....	33
3.4	DIAGNÓSTICO GESTACIONAL.....	35
3.5	AVALIAÇÃO DA SUPLEMENTAÇÃO COM BETACAROTENO NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS NELORE.....	36
3.6	AVALIAÇÃO DO PERFIL METABÓLICO APÓS INFUSÃO RUMINAL DE PROPILENOGLICOL (PPG).....	38
3.7	ACOMPANHAMENTO DE AULAS E PALESTRAS.....	40
3.8	ATIVIDADES EM EMPRESAS PRIVADAS.....	41
3.8.1	CENTRAL BELA VISTA.....	41
3.8.2	<i>IN VITRO</i> BRASIL.....	50
3.9	CURSOS PROFISSIONALIZANTES.....	53
3.9.1	CURSO DE AVALIAÇÃO GINECOLÓGICA E EFICIÊNCIA REPRODUTIVA EM FÊMEAS BOVINAS.....	53
3.9.2	CURSO TEÓRICO-PRÁTICO DE ULTRASSONOGRAFIA DOPPLER PARA DIAGNÓSTICO SUPERPRECOCE DE GESTAÇÃO.....	55
4	EXPERIMENTO ACOMPANHADO: APLICAÇÕES DO COLOR-DOPPLER NO CONTROLE REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS-RESSINCRONIZAÇÃO SUPERPRECOCE.....	58
4.1	INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	58
4.2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	63
4.2.1	AVALIAÇÕES REPRODUTIVAS COM A ULTRASSONOGRAFIA COLOR-DOPPLER.....	65
4.2.1.1	FORMAS DE AVALIAÇÃO.....	65
4.2.1.2	AVALIAÇÃO DA PERFUSÃO UTERINA.....	67
4.2.1.3	ANÁLISE DA FUNCIONALIDADE DO CL.....	68
4.2.1.4	DETECÇÃO DA LUTEÓLISE PARA DIAGNÓSTICO PRECOCE DA GESTAÇÃO.....	69
4.2.2	APLICAÇÕES EM PROGRAMAS REPRODUTIVOS PARA BOVINOS.....	73

4.2.2.1	USO EM PROGRAMAS DE RESSINCRONIZAÇÃO PRECOCE DA OVULAÇÃO PÓS-IATF.....	73
4.3	MATERIAL E MÉTODOS.....	77
4.3.1	LOCAL E GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	77
4.3.2	AVALIAÇÕES ULTRASSONOGRÁFICAS DO APARELHO REPRODUTOR.....	82
4.3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	83
4.4	RESULTADOS PRELIMINARES E DISCUSSÃO.....	84
4.5	RENTABILIDADE DO SISTEMA.....	89
4.6	CONCLUSÕES.....	91
4.7	RECOMENDAÇÕES.....	92
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	93
6	REFERÊNCIAS.....	94

1 INTRODUÇÃO

O Estágio Curricular Supervisionado é um quesito obrigatório para a conclusão do curso de graduação em Medicina Veterinária, o qual foi realizado no Departamento de Reprodução Animal (VRA), na Universidade de São Paulo (USP), Campus São Paulo, no período de 07 de Agosto à 31 de Outubro de 2017, perfazendo um total de 488 horas de atividades desenvolvidas sob a supervisão do Professor Doutor Pietro Sampaio Baruselli e orientação do Professor Doutor Márcio Gianordoli Teixeira Gomes.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo originou-se no ano de 1919, quando foi criado o Instituto de Veterinária, que, posteriormente, em 1928, transformou-se na Escola de Medicina Veterinária, ficando subordinada à Diretoria de Instituto de Indústria Animal da Secretaria da Agricultura. Em 1934 a Escola de Medicina Veterinária foi incorporada à USP, sendo criada a FMVZ (FMVZ, 2017).

Em 1988 o Departamento de Reprodução Animal foi reconhecido pelo Conselho Universitário. Através da autonomia do departamento, houve maior facilidade na captação de recursos para a construção e expansão de prédios próprios, nos *Campi* de São Paulo e Pirassununga, além da maior distribuição de materiais advindos da criação do VRA. A maioria dos equipamentos, assim como o material de consumo especializado no ensino e na pesquisa, foi adquirido através de projetos encaminhados a entidades financeiras (ELIFF, 2017).

Em 1990 foi reativado o Centro de Inseminação Artificial e criado o Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal, no Campus de Pirassununga. O Centro está localizado em área aproximada de 210.000 m², constituindo laboratórios de fisiologia e endocrinologia molecular, biotecnologia do sêmen e andrologia, biotecnologia de ovinos e caprinos, sala para colheita de sêmen e embriões, curral aberto para manuseio em tronco de contenção de 8 animais concomitantemente, 4 salas para docentes e sala para aulas teóricas, 12 piquetes (12.000 m²), 6 pastos (176.000 m²) e capineiras (20.000m²).

Conta ainda, com equipamento de pesquisa com ultrassonografia e sistemas “*Heat-watch*” para diagnóstico de cio de vacas por telemetria. Uma casa de aproximadamente 250 m², próxima ao Centro, serve de alojamento para

docentes, pós-graduandos, estagiários e monitores, quando em atividades de ensino, pesquisa ou prestação de serviços à comunidade.

O VRA, localizado na Avenida Professor Dr. Orlando Marques de Paiva, Número 87, Cidade Universitária, São Paulo – SP, CEP- 05508-270 (Quadro 1 A), tem como objetivo o desenvolvimento de atividades de ensino para a graduação e pós-graduação de Medicina Veterinária. Atualmente, o departamento (Quadro 1 B) é constituído por quatro Professores Titulares, cinco Professores Associados e seis Professores Doutores. O quadro auxiliar é composto por três técnicos de nível superior, dois técnicos de nível médio, seis técnicos operacionais e quatro secretários.



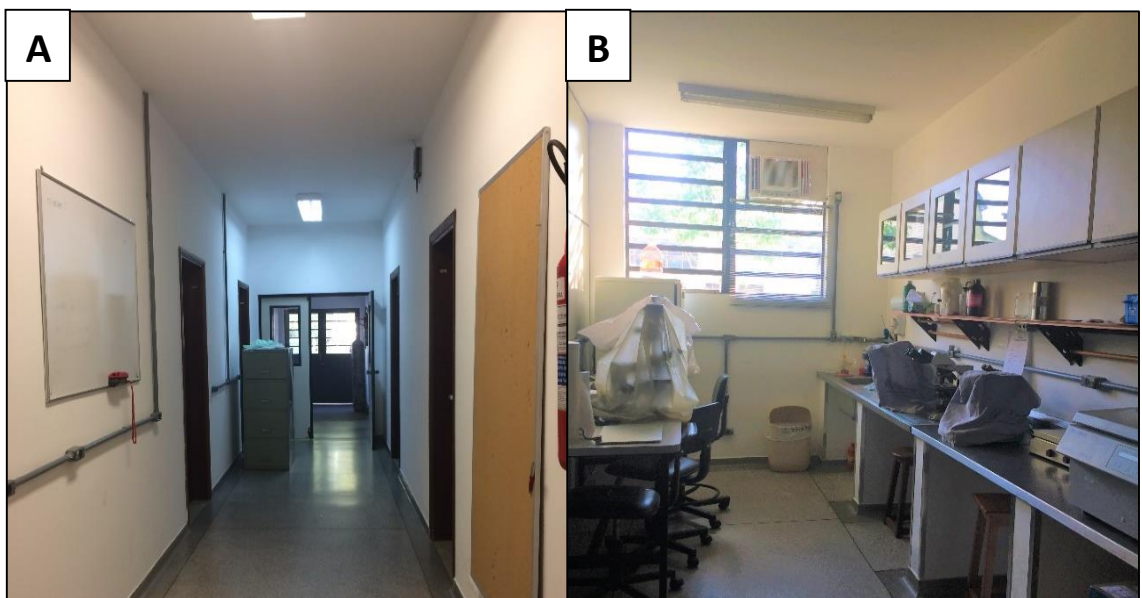
Quadro 1 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) (A). Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo (B).
Fonte- Acervo do Autor, São Paulo (2017)

O departamento se subdivide em setores laboratoriais- Laboratório de Dosagens Hormonais; Laboratório da Biologia do Espermatozoide (Quadro 2 A), que dispõe de uma sala anexa para esterilização de materiais (Quadro 2 B); Laboratório de Andrologia; Laboratório de Fecundação *In Vitro*, Clonagem e Transgenia Animal; Laboratório de Perinatologia; Patologia da Reprodução e Inseminação Artificial; Laboratório da Prenhez e Periparto em Equídeos; Laboratório de Reprodução Aviária.



Quadro 2 - Laboratório da Biologia do Espermatozoide (A) e sala de esterilização (B).
 Fonte- Acervo do Autor, São Paulo (2017)

Os Laboratórios de Fecundação *In Vitro* (Quadro 3 A), Clonagem e Transgenia Animal (Quadro 3 B) e Laboratório de Reprodução Aviária apresentam cerca de metade da extensão total do departamento; dispendo de salas para armazenamento de equipamentos, medicamentos, botijões para armazenamento de nitrogênio e até um aviário adaptado, com acesso restrito, para estudos mais detalhados.



Quadro 3 - Laboratório de Fecundação *In Vitro* (A). Laboratório de Clonagem e Transgenia Animal (B).
 Fonte- Acervo do Autor, São Paulo (2017)

A equipe coordenada pelo Professor Pietro Sampaio Baruselli é o Laboratório de Dosagens Hormonais (Quadro 4), constituído por dois doutorandos bolsistas da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e seis mestrados, subsidiados pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Pessoal e Superior (CAPES) e FAPESP.



Quadro 4 - Laboratório de Dosagens Hormonais.
Fonte- Imagens cedidas por Flávia Elliff, São Paulo (2016)

Parte das atividades diárias foram realizadas em laboratório, no prédio do VRA. A sala é equipada com duas grandes bancadas para utilização de notebooks e leitura, além de oito geladeiras onde são mantidos diversos medicamentos e hormônios, algumas caixas catalogadas contendo materiais utilizados à campo para os projetos de pesquisa; como agulhas, seringas, dispositivos intravaginais de progesterona, luvas de procedimento, luvas de palpação retal, além de três modelos de ultrassom; *Mindray® DP 2200*, *Mindray® M5* e *SonoScape® S8*, centrífugas e botijões de sêmen.

Além das atividades dentro do VRA, diversas viagens foram realizadas para acompanhar os diferentes projetos em andamento, incluindo viagens para o Instituto de Zootecnia (IZ), em Nova Odessa – SP; J. Ida Agropecuária Ltda., em Águas da Prata – SP; Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, em Pindamonhangaba – SP; Fazenda Santa Paula, em Araçatuba – SP; Fazenda Colorado, em Araras – SP; Fazenda Espírito Santo, em Indaiatuba – SP; Fazenda Caçadinha (DSM Tortuga) e Fazenda União (Fabiani Saúde Animal),

ambas no município de Rio Brillhante – MS; Fazenda Emyreio, em Jacarezinho – PR; Rancho Ouro Fino, em Astorga – PR e outros.

Além das visitas técnicas experimentais, foi possível acompanhar a rotina de algumas empresas privadas, como a Central Bela Vista, localizada em Botucatu e a *In Vitro* Brasil, localizada em Mogi Mirim, ambas no Estado de São Paulo. Cursos de capacitação concomitantemente foram realizados, como o ‘Curso de Avaliação Ginecológica e Eficiência Reprodutiva em Fêmeas Bovinas’ pela empresa DG Torres Assistência Veterinária, em Morungaba - SP; ‘II Curso Teórico-Prático de Ultrassonografia Doppler para Diagnóstico Superprecoce de Gestação’ pela empresa Ouro Fino em parceria com a USP – Campus Pirassununga - SP.

A escolha desse departamento para a realização do estágio obrigatório foi motivada devido ao uso e desenvolvimento de tecnologias reprodutivas pelo local, que visam melhorar a eficiência reprodutiva de matrizes em fazendas de sistema de cria, proporcionando assim, conhecimentos essenciais para conduzir a futura profissão.

2 OBJETIVO GERAL

O objetivo do presente trabalho consiste em apresentar as atividades realizadas durante o Estágio Curricular Supervisionado no curso de Medicina Veterinária.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Discutir sobre as vantagens e desvantagens da ressincronização em bovinos de corte.

Explicar sobre a forma de diagnóstico precoce de gestação no dia 22 pós ovulação, presentes em literatura científica.

Analisar preliminarmente a eficiência de um protocolo de ressincronização superprecoce com diferentes dosagens de P4 injetável (Afisterone®).

3 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

As atividades desenvolvidas durante o Estágio Curricular abrangeram a grande área da Reprodução Animal, englobando as espécies bovina e bubalina, sendo realizado de forma distribuída; parte no Laboratório de Dosagens Hormonais, no Departamento de Reprodução Animal - USP São Paulo, e parte em propriedades rurais, nas quais os alunos de pós-graduação promoveram os delineamentos experimentais; estas etapas estão descritas na Tabela 1.

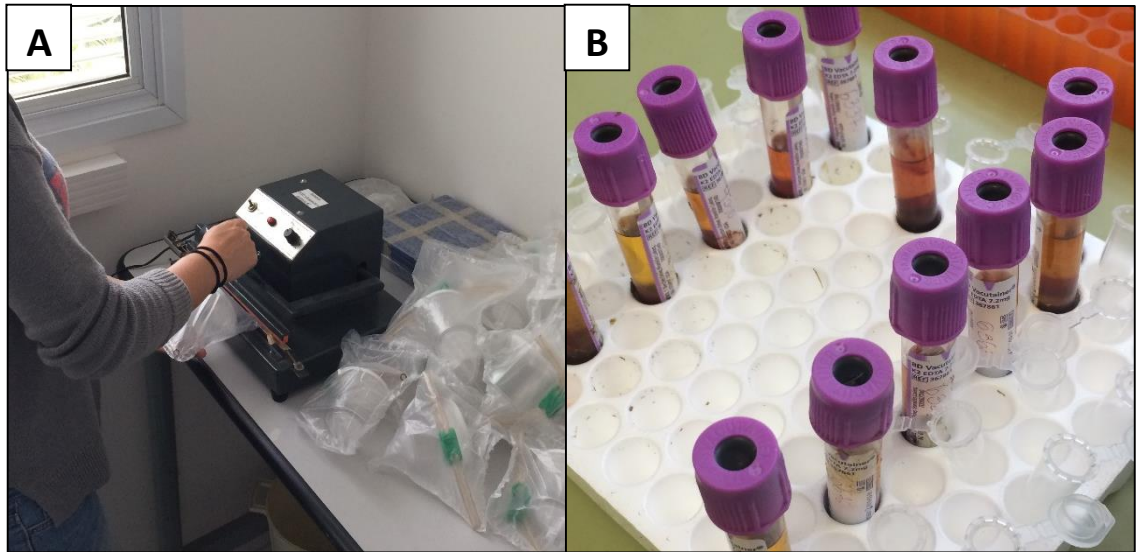
Tabela 1 - Atividades desenvolvidas durante o período de Estágio Curricular pela Universidade de São Paulo, período entre 07 de Agosto e 31 de Outubro de 2017.

ÁREA	PROCEDIMENTOS	BOVINOS	BUBALINOS
Reprodução Animal	Avaliação de Ciclicidade e/ou Ginecológica	1797	-
	Protocolo de Sincronização para IATF	1692	-
	IATF	1692	-
	Protocolo de Ressincronização aos 14 dias	862	-
	Protocolo de Ressincronização aos 18 dias (Vacas de Leite)	170	-
	Diagnóstico de Gestação Superprecoce (22 dias) – Modo Color-Doppler	862	-
	Diagnóstico de Gestação Convencional (30 dias) - Modo B	900	11
	Sexagem fetal	2	3
	Suplementação com Betacaroteno em Vacas de Corte	830	-
	Dosagem de P4	16	-
	Infusão ruminal com Propilenoglicol	16	-
	Acompanhamento de Aulas e Palestras	20	2
	Atividades em Empresas Privadas	2	-
	Cursos Profissionalizantes	2	-
TOTAL DE PROCEDIMENTOS REALIZADOS		8863	16

Fonte- Levantamento de dados – Pesquisa de Campo.

No decorrer do período de estágio foi possível acompanhar e auxiliar atividades à campo, como a aplicação de biotécnicas com fins reprodutivos; sincronização de estro, inseminação artificial em tempo fixo, ressincronização, coleta de sangue para dosagem de progesterona, glicose sérica e retinol, infusão ruminal de propilenoglicol e outros.

Na parte laboratorial, atividades como organização de materiais, montagem de kits para transferência de embriões (Quadro 5 A), centrifugação e pipetagem de amostras sanguíneas (Quadro 5 B), elaboração de planilhas e gráficos dinâmicos foram realizadas.



Quadro 5 - Preparação de kits para transferência de embriões à campo (A). Organização de tubos para pipetagem (B).

Fonte- Acervo do Autor, São Paulo (2017)

Diante a amostragem de tarefas executadas durante o estágio, 67% das atividades consistiram em trabalhos práticos, executados em fazendas e empresas privadas e 33% das tarefas foram efetuadas em laboratório, nas propriedades do Departamento de Reprodução Animal (Gráfico 1).

Distribuição das Atividades durante o período de Estágio Curricular Obrigatório

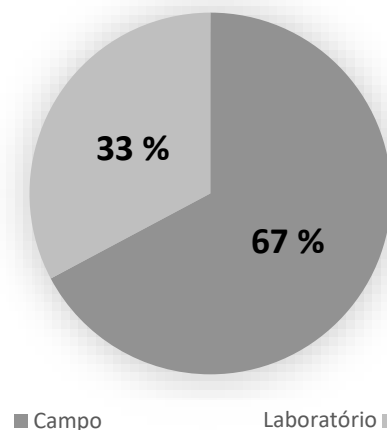


Gráfico 1 - Distribuição das atividades desenvolvidas durante o Estágio Curricular no Departamento de Reprodução Animal, USP.

Para obter sucesso numa realidade de constante evolução é impreterivelmente necessário que o técnico responsável por utilizar a tecnologia seja capaz de manusear quaisquer equipamentos, interpretar com sabedoria e

tempo hábil o resultado das análises realizadas, dominar de forma geral a técnica empregada (ABREU, 2017).

É nesse contexto que as atividades práticas podem ajudar no desenvolvimento de conceitos científicos, permitindo que os estudantes aprendam como abordar objetivamente o seu mundo e como desenvolver soluções para problemas complexos (LUNETTA, 1991).

O aluno que não participa das tarefas práticas, tem maiores dificuldades quando atinge a cadeira profissional, pois o conhecimento teórico não supre sozinho o comportamento que a medicina veterinária exige. São nessas atividades que os alunos têm a oportunidade de interagir com as montagens de instrumentos específicos que normalmente eles não têm contato em um ambiente com um caráter mais informal do que o ambiente da sala de aula (BARBOSA, 2002).

3.1 Avaliação de Ciclicidade e/ou Ginecológica

A puberdade pode ser definida como a aquisição da capacidade em se reproduzir. No entanto, não deve ser interpretada como uma etapa isolada, devendo ser caracterizada como o evento final de inúmeras alterações fisiológicas e morfológicas.

O estímulo necessário para a ocorrência da puberdade é um aumento na secreção de LH como resultado do aumento da liberação de GnRH, e o intervalo ao longo do qual esse aumento ocorre é denominado período de pré-puberdade (DAY *et al.*, 1984).

Entretanto o *feed-back* negativo do E₂ sobre a secreção de GnRH é o fator determinante para que não haja a ovulação em novilhas, ao passo que o aumento da secreção endógena de E₂ torna este *feed-back* positivo, culminando na ovulação (DAY *et al.*, 1987; NOGUEIRA, 2004).

A maturação sexual é observada pelo aumento da incidência de manifestação de estro e da fertilidade. Geralmente, são necessários dois a três ciclos estrais com fases luteais normais (40 a 60 dias após a ocorrência da puberdade) para que a fêmea bovina apresente capacidade de conceber (SANTOS e SÁ FILHO, 2006).

Segundo Colli (2015), a avaliação de ciclicidade é feita em novilhas, avaliando-se útero e ovários, previamente à EM com idade entre 22 e 25 meses ou 12 à 15 meses, para os animais precoces. Este procedimento consiste no exame ultrassonográfico do ovário, para detectar se há presença de CL, que indica a ocorrência de ovulação prévia.

A novilha para ser considerada cíclica, deve possuir um CL em um dos ovários, sendo classificada como apta para submissão ao protocolo de IATF. A ocorrência da primeira ovulação é dependente de vários fatores, como genética, que pode influenciar na existência de animais mais precoces, época de nascimento, manejo de cria e recria, condição corporal, peso corpóreo, ganho médio de peso diário, dieta, estresse e outros.

Na Fazenda Emyreio, localizada em Jacarezinho - PR; foi possível avaliar de forma técnica o aparelho reprodutivo de novilhas, objetivando fazer não somente a avaliação de ciclicidade mas também ginecológica, através de avaliação visual da vulva, palpação retal da cérvix, útero e ovários; procedimento (Quadro 6 A) por sua vez realizado também em outras propriedades, como o Instituto de Zootecnia, em Nova Odessa – SP (Quadro 6 B).

O objetivo deste exame é detectar qualquer anormalidade no trato reprodutivo da fêmea, de forma que o animal esteja enquadrado no que é desejado para sua função. Para tal, um levantamento de dados é necessário, como histórico reprodutivo, manejo sanitário, condição corporal, entre outros.



Quadro 6 - Animais do Instituto de Zootecnia (A). Avaliação ginecológica por intermédio de palpação transretal (B).

Fonte- Acervo do Autor, Nova Odessa, São Paulo (2017)

3.2 Protocolo de Sincronização para IATF

Um programa de IATF é destinado a propriedades de cria, que possuem estação de monta (EM) definida de acordo com suas necessidades. Esta prática permite que a estação de nascimentos e estação de monta ocorram em condições climáticas ideais e com disponibilidade forrageira durante a EM (SÁ FILHO *et al.*, 2013).

Previamente ao início da EM, algumas etapas são realizadas, como; reuniões para traçar o delineamento, objetivos de produção da propriedade, orientação sobre vacinação contra enfermidades reprodutivas, escolha dos protocolos de sincronização de acordo com a categoria animal, escolha do sêmen que será utilizado, análise por touro e partida das amostras utilizadas, exame andrológico nos touros de repasse, avaliação de ciclicidade em novilhas.

Existem vários modelos de protocolos reprodutivos, com diferentes combinações de medicamentos e tempos de duração; tais como o protocolo de cinco dias, conhecido por Ovsynch, protocolo de seis dias, J-Synch, e outros. A eficácia de cada protocolo depende de vários fatores; objetivos, manejo adotado pela fazenda, tipo de produção animal (carne e leite), categoria animal.

O protocolo de sincronização da ovulação utilizado com maior frequência para bovinos de corte é realizado com três manejos e possui 10 dias de duração, com algumas modificações para encaixe de calendário ou para atender necessidades fisiológicas específicas de acordo com cada categoria animal que é manejada.

O primeiro dia do protocolo é chamado de D0, consiste na introdução de um implante intravaginal¹ impregnado com progesterona (P4) ou implante auricular subcutâneo de norgestomet² e aplicação de 2 mg IM de BE³, após 8 dias (D8) o dispositivo intravaginal é retirado e é realizada administração de três

¹ DIB® (1,0g) ou CIDR® (1,9g) – Zoetis, São Paulo – SP; Ferticare Implante 1200® (1,2g) ou 600® (0,6g) – Vallée, Montes Claros – MG; Primer® (1,0g) – Agener União/ Tecnopec – São Paulo, SP; Sincrogest® (1,0g) – Ouro Fino, Cravinhos – SP; Prociclar® (0,75g) – Hertape Calier, Juatuba – MG; Cronipress® (0,558g) – Biogenesis Bagó, Curitiba – PR.

² Crestar® (3mg) – MSD Saúde Animal, São Paulo – SP.

³ Ferticare Sincronização® (1 mg/mL) – Vallée, Montes Claros – MG; Gonadiol® (1mg/mL) – Zoetis, São Paulo – SP; RIC-BE® (1mg/mL) – Agener União/ Tecnopec – São Paulo, SP; Sincrodiol® (1mg/mL) Ouro Fino – Cravinhos, SP.

fármacos, sendo, 0,265 a 0,530 mg IM de cloprostenol sódico (PGF)⁴, 300 a 400 UI IM de eCG⁵ e 0,6 a 1 mg IM de CE⁶ e IATF realizada 48 horas após (D10) a retirada do dispositivo intravaginal de P4 (COLLI, 2015).

Utiliza-se uma dose de sêmen por IA, as palhetas de sêmen são descongeladas em descongelador eletrônico com termostato ajustado na temperatura de 36°C (Quadro 7). O tempo mínimo de descongelação varia de acordo com o volume da palheta sendo de 30 e 20 segundos para palheta média (0,5mL) e fina (0,25mL), respectivamente.



Quadro 7- Equipamentos utilizados no momento da Inseminação Artificial.
Fonte- Acervo do Autor, Nova Odessa, São Paulo (2017)

Nas atividades acompanhadas, foi adotada a proposta de Penteado (2017), que demonstra que melhores resultados são alcançados quando são descongeladas apenas três palhetas por vez ao invés de dez, por exemplo. Nos trabalhos conduzidos pelo pesquisador, 280 vacas que contaram com o descongelamento rápido apresentaram 44% de prenhez, ao passo que as que receberam sêmen descongelado de forma lenta, com variação da temperatura inferior a 1,5°C, tiveram média de 56%.

Ao abaixar a temperatura das palhetas de sêmen em mais de 1,5°C, durante a transferência do botijão de nitrogênio para o descongelador, contribui-

⁴ Ciosin® (0,530 mg/2mL) – MSD, São Paulo – SP; Estron® (0,241 µg/mL) – Agener União/ Tecnopec – São Paulo – SP; Sincrocio® (0,263mg) Ouro Fino – Cravinhos, SP.

⁵ Folligon® (200UI/mL) – MSD, São Paulo – SP; Novormon® (200UI/mL) – Zoetis, São Paulo – SP; Sincro ECG® (6000UI) – Ouro Fino, Cravinhos – SP.

⁶ E.C.P® (2mg/mL) – Zoetis, São Paulo – SP; Sincro CP® (1 mg/mL) Ouro Fino – Cravinhos, SP; Fertilcare Ovulação® (0,5 mg/mL) – Vallée, Montes Claros – MG.

se para que proteínas do espermatozoide sejam lesadas, justificando os resultados inferiores.

No dia do implante, dados como; propriedade, data de início, horário, programa, lote de animais, identificação do animal, escore de condição corporal (ECC), raça, categoria, protocolo utilizado, equipe executora e observações pertinentes devem ser registrados com cuidado.

Com a coleta desses dados, é possível registrar em planilhas todos os manejos dentro da EM e garantir o controle dos serviços. Com os dados determinados, é possível atualizar uma ficha de acompanhamento, que será utilizada no curral no dia da retirada (D8) e IATF (D10). Em todas as fases do protocolo as vacas são checadas se realmente compareceram ao manejo, de forma que vacas não sincronizadas corretamente sejam inseminadas.

No dia da IATF, são anotadas na sequência da ficha informações como, partida de sêmen utilizada, inseminador, responsável por descongelamento do sêmen e montagem do aplicador, responsável pelas anotações, como horário e outros.

Após 30 dias da IATF, poderá ser o diagnóstico de gestação (DG), e com base nessas informações será calculada a taxa de concepção, que pode ser ilustrada em gráficos ou tabelas, podendo ainda filtrar dados como, taxa de concepção por programa, ressincronização, repasse de touro, lote, categoria de animais, inseminador, touro, etc.

3.3 Protocolo de Ressincronização

Apesar das vantagens relacionadas ao uso de programas de IATF no início da EM, o uso de touros para o acasalamento das vacas não gestantes podem não ser suficientes para atingir os objetivos de produção. Uma dificuldade no uso deste tipo de manejo reprodutivo é a necessidade de um grande número de touros para servirem no primeiro retorno de estro (1:25).

Programas de IATF envolvem sincronização da ovulação após a indução da luteólise, que somente podem ser implementada num programa de ressincronização em vacas não gestantes, após o diagnóstico de gestação realizado cerca de 30 dias após a IATF (GALVÃO *et al.*, 2007).

A ressincronização consiste na realização de um ou mais protocolos de IATF após uma prévia sincronização. O resultado da concepção após a sincronização do estro e ovulação é desconhecido até as vacas retornarem ao estro ou após o diagnóstico de gestação, e a ressincronização para subsequente IATF é possível (STEVENSON *et al.*, 2003).

Existem dois momentos distintos para o início da ressincronização, após 22 a 24 dias após prévia IATF (sem DG) (Quadro 8) e também há a possibilidade do início do próximo protocolo ser no momento do DG, por volta dos 30 a 32 dias após 1ª IATF.



Quadro 8 - Materiais utilizados (seta) e disposição dos animais para a ressincronização, após 22 dias de IATF, em vacas leiteiras.

Fonte- Acervo do Autor, Águas da Prata, São Paulo (2017)

Para se obter melhores ganhos genéticos e de produção, estratégias reprodutivas devem focar no aumento da proporção de vacas criando bezerros provenientes de IA, pela melhoria das taxas de serviço e reduzindo o intervalo entre inseminações sem comprometer a viabilidade da gestação já estabelecida (SÁ FILHO *et al.*, 2014).

Na Fazenda Colorado, localizada em Araras – SP, o programa de ressincronização também foi adotado (Quadro 9), transformando a rotina reprodutiva dos animais da empresa Xandô, de forma a aumentar a taxa de serviço e selecionar melhores animais no decorrer das avaliações diagnósticas.



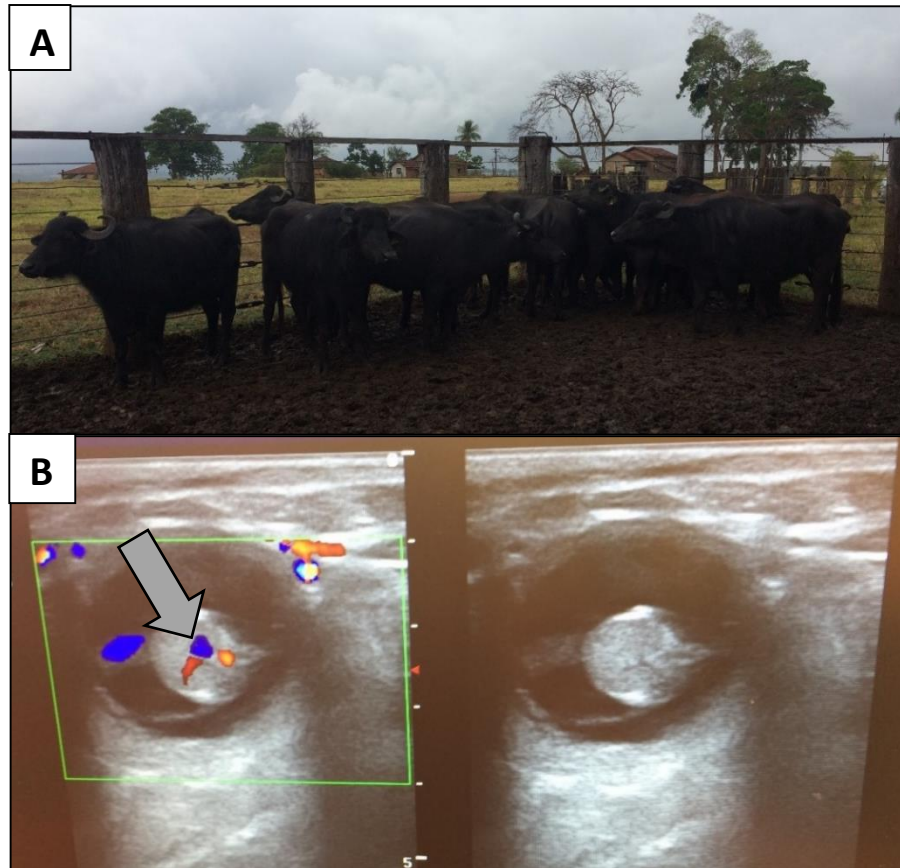
Quadro 9 - Realização de diagnóstico de gestação com Color-Doppler em vacas leiteiras.
Fonte- Acervo do Autor, Araras, São Paulo (2017)

3.4 Diagnóstico Gestacional

O diagnóstico de gestação, em bovinos e bubalinos (Quadro 10 A), é realizado em fêmeas que foram inseminadas, no mínimo 30 dias antes (± 3 dias), quando realizado por ultrassonografia em modo B e com 22 dias (± 2 dias), quando realizado por ultrassonografia modo Color-Doppler. A gestação é confirmada quando visualizada, na tela do aparelho, a vesícula embrionária com líquido amniótico e batimentos cardíacos do embrião (Quadro 10 B).

Através da ultrassonografia, entre o 55^o ao 70^o dia, é possível identificar o sexo do bezerro, através da visualização do tubérculo genital. Este é uma estrutura embrionária que dará origem ao clitóris nas fêmeas e a glânde nos machos, uma estrutura bi-lobulada com ecogenicidade semelhante ao tecido ósseo.

O tubérculo genital está posicionado caudalmente à inserção do cordão umbilical no macho, e logo abaixo da cauda nas fêmeas (DESCÔTEAUX; GNEMMI; COLLOTON, 2009). Essa técnica de diagnóstico proporciona o planejamento de rebanhos em atendimento às necessidades do comprador e do vendedor (MILKPOINT, 2009).



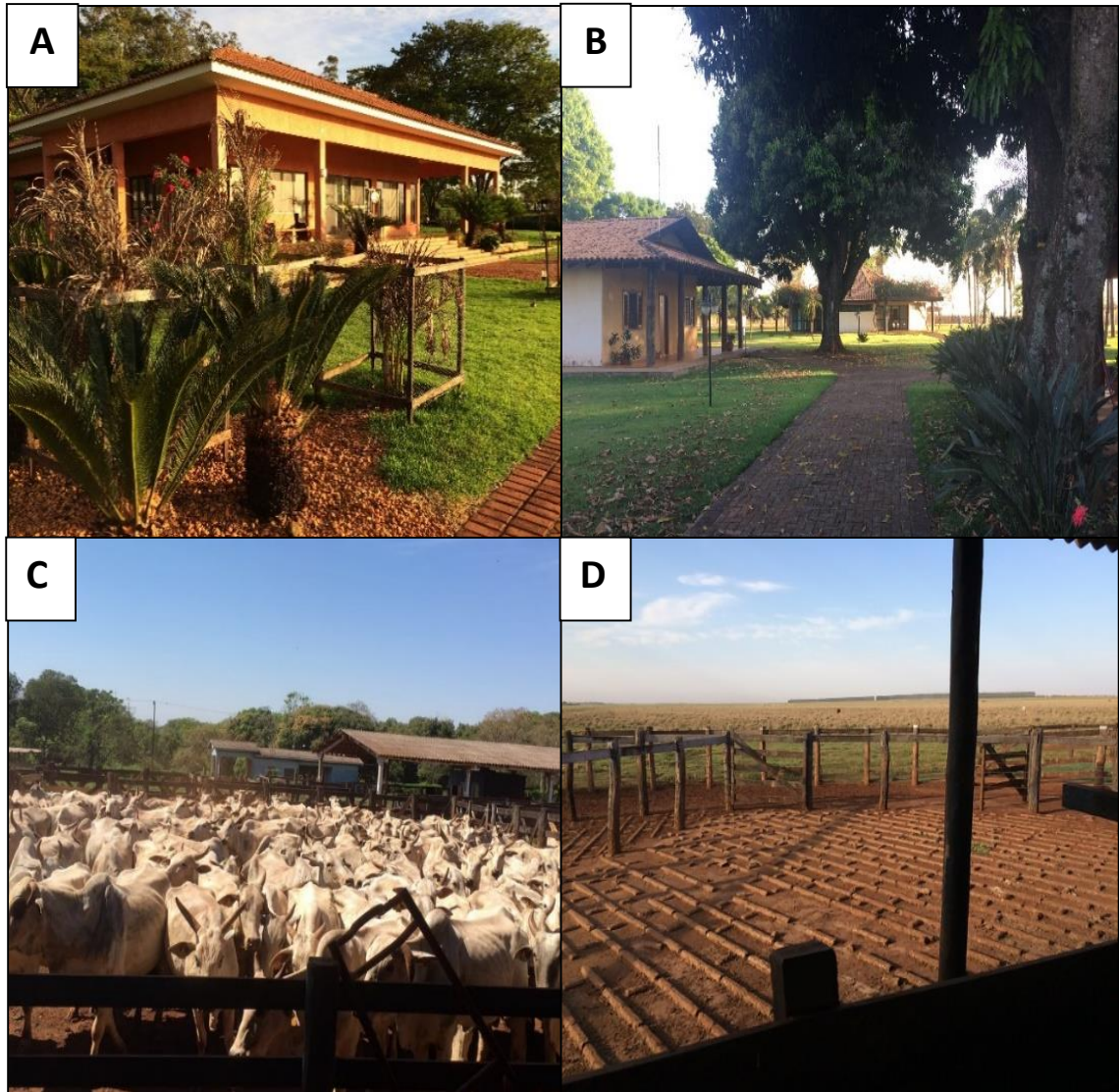
Quadro 10 - Búfalas em espera para receber DG (A). Diagnóstico de gestação de búfalas aos 30 dias, evidenciando a presença do embrião e circulação cardíaca (seta) (B).

Fonte- Acervo do Autor, Araçatuba, São Paulo (2017)

3.5 Avaliação da suplementação com betacaroteno na taxa de concepção de vacas Nelore

A empresa de nutrição animal, DSM Tortuga, teve por objetivo estudar os efeitos da suplementação com betacaroteno sobre a fertilidade de vacas nelore. O betacaroteno, por sua vez, é rico em vitamina A, atuando na manutenção do equilíbrio de mucosas, e por tal, acredita-se que possa atuar conjuntamente sobre o endométrio, tornando o ambiente uterino mais receptivo, podendo elevar as taxas de concepção.

Trabalhos foram desenvolvidos nas fazendas Caçadinha (Quadro 11 A/B/C) e União, (Quadro 11 D) município de Rio Brillante – MS; onde 830 vacas foram divididas em dois tratamentos, sendo um Grupo Controle (n=415) que recebeu sal mineral comum (componentes não divulgados) e, Grupo Teste (n=415) que recebeu sal mineral suplementado com betacaroteno, em cocho, de forma homogênea, com coleta e pesagem de sobras.



Quadro 11 - Fazenda Caçadinha (A, B, C) Fazenda União (D).
 Fonte- Acervo do Autor, Rio Brillhante, Mato Grosso do Sul (2017)

A randomização tem como objetivo a criação de grupos experimentais com a mesma média de ECC e retinol sanguíneo, que é o precursor do betacaroteno, possibilitando somente o efeito dos diferentes tratamentos. Segundo Elliff (2016), as vacas eram mantidas em diferentes setores, e para diminuir o efeito de pasto, a cada dois dias as vacas eram trocadas de piquete, no mesmo setor, e após passarem pelos quatro piquetes deste, oito dias depois, eram direcionados para outro local.

A cada troca de ambiente, se tornava necessário a coleta da forrageira dos piquetes, que eram congeladas e enviadas para laboratório para posterior

análise de betacaroteno. Foi realizada a coleta de amostras de sangue da veia coccígea média para análise do nível de retinol sérico.

Para efetuar o exame, 0,4 mL do sangue coletado foi direcionado ao frasco com reagente (iCheck®) e homogeneizado por trinta segundos, aguardando tempo de espera de cinco minutos, para posterior realização da fotometria da amostra, por aparelho específico (iCheck Carotene®) (Quadro 12).



Quadro 12 - Organização das amostras de sangue (A). Aparelho portátil de fotometria, quantificando o betacaroteno na amostra inserida (B).

Fonte- Imagens cedidas por Amanda Dorta, Rio Brilhante, Mato Grosso do Sul (2017)

Os animais foram suplementados durante 30 dias para sincronização de protocolo de IATF. As vacas foram marcadas na garupa com bastão marcador de cera para detectar cio e foi realizado o exame ultrassonográfico para mensuração do folículo dominante. Após 48 horas foi realizada a IATF e os resultados serão obtidos após o diagnóstico gestacional.

3.6 Avaliação do perfil metabólico após infusão ruminal de propilenoglicol (PPG)

A PIVE em vacas leiteiras de origem *Bos taurus*, apresenta resultados insatisfatórios quando comparado a animais *Bos indicus* (PONTES *et al.*, 2010). A alta produção de leite destes animais faz com que a demanda energética seja maior que a capacidade de ingestão de energia, levando o animal a um estado

de balanço energético negativo (BEN) que por consequência leva a redução na eficiência reprodutiva do rebanho (REZENDE, 2017, dados não publicados). Vacas de leite submetidas a infusão ruminal de propilenoglicol tem incremento da glicose circulante, juntamente com incremento dos níveis séricos de insulina (NIELSEN; INGVARTSEN, 2004).

Dessa forma, 16 vacas leiteiras, do Instituto de Zootecnia, localizado no município de Nova Odessa – SP, foram subordinadas a dois grupos experimentais; Grupo Controle, que não obteve nenhum tratamento e, Grupo Teste, que recebeu infusão ruminal de 500 mL de propilenoglicol (Quadro 13 A), duas vezes ao dia, após a primeira e segunda ordenha; às 06-00 e 16-00 respectivamente (Quadro 13 B), durante cinco dias. Os grupos apresentavam oito animais; sendo, quatro repetidoras de serviço e quatro em pico de lactação.



Quadro 13 - Fornecimento de propilenoglicol (A). Vaca holandesa experimental após ordenha (B).

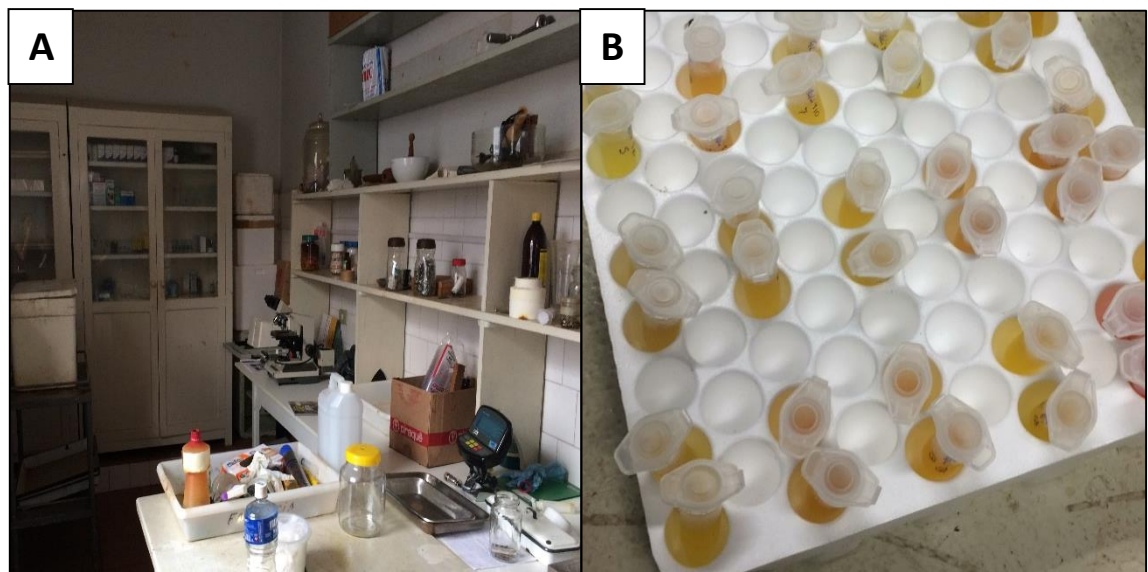
Fonte- Imagens cedida por Romulo Germano, Nova Odessa, São Paulo (2017)

Alterações metabólicas no plasma tem alta correlação com alterações no líquido folicular (LEROY *et al.*, 2004), portanto essas alterações podem refletir na qualidade do oócito do folículo recrutado em condições metabólicas mais favoráveis, e por conseguinte melhores resultados na PIVE (REZENDE, 2017, dados não publicados).

Um total de 65 amostras em 13 tempos foram coletadas de cada animal, para análises de P4, Insulina, Glicose, IGF-1, beta-hidroxi-butilato (BHBA) e ácidos graxos não esterificados (NEFA) (Quadro 14 A/B). As análises de P4, Glicose, BHBA e NEFA foram realizadas no Laboratório Clínico do

Departamento de Clínica Médica – VCM – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. As análises de IGF-1 e Insulina serão realizadas em parceria com o Laboratório de Endocrinologia da UNESP de Araçatuba.

Até o momento não foram obtidos resultados, mas a análise das amostras possibilitarão o entendimento do metabolismo energético dos animais submetidos ao tratamento, para posterior correlação com os resultados obtidos na PIVE.



Quadro 14 - Sala de manipulação das amostras (A). Alíquotas, referentes às análises experimentais (B).

Fonte- Acervo do Autor, Nova Odessa, São Paulo (2017)

3.7 Acompanhamento de aulas e palestras

Durante o período de estágio obrigatório foi possível acompanhar aulas teóricas e práticas no Departamento de Reprodução Animal e bloco de aulas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP (Figura 1), além de palestras com profissionais de diversas empresas, como CRV Lagoa, Camda, GeraEmbryo, CEVA e outros.



Figura 1- Bloco de aulas do curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo (2017).

Fonte- <http://www.imagens.usp.br/?p=13579>. Acesso em 01/Nov/2017.

A empresa Camda, apresentou recentemente aos cooperativados um novo sistema de avaliação reprodutiva, que se chama *ReproduCamda*. O técnico recolhe os índices zootécnicos na propriedade e envia ao responsável pelo controle de dados do programa, que por sua vez, irá avaliar o desempenho da propriedade através de várias categorias. O aplicativo ainda possui um modelo de 'velocímetro', que ranqueia o produtor em comparação aos demais parceiros, dentro das avaliações.

3.8 Atividades em Empresas Privadas

3.8.1 Central Bela Vista

Além das atividades laboratoriais e à campo, realizadas durante o período de Estágio Curricular, foi possível acompanhar a rotina de empresas privadas, como a Central Bela Vista e a *In Vitro Brasil*, localizadas em Botucatu e Mogi Mirim, respectivamente, no Estado de São Paulo.

A Central Bela Vista foi adquirida pelo Grupo CRV em 2011 e, no ano seguinte, anunciou a compra de uma nova propriedade para abrigar as futuras instalações. Inaugurada em maio do ano vigente, é a maior central de coleta e processamento de sêmen da América Latina.

A propriedade dispõe de 130 hectares e é beneficiada pelo clima, com altitude próxima de 1.000 metros, o que, conjuntamente ao isolamento sanitário, são diferenciais para a produção de sêmen congelado de bovinos e bubalinos de diversas raças de corte e leite.

Desde 2002, a empresa CRV mantém as certificações ISO 9001 e ISO 14001. A ISO 9001 assegura a satisfação de seus clientes, e já a norma ISO 14001 é uma ferramenta criada para identificar, priorizar e gerenciar os riscos ambientais como parte das práticas usuais da empresa.

O prédio da recepção (Quadro 15 A), bastante aconchegante, conta com várias salas para reuniões e escritórios (Quadro 15 B). A fazenda possui laboratórios com equipamentos de última geração, banco de sêmen, curral de quarentena *anti-stress*, centro de coleta e piquetes funcionais, sempre visando o bem-estar dos animais. Além de sistema de irrigação nos piquetes e drenagem pluvial, as estruturas contam com ruas asfaltadas, que facilitam a locomoção de misturadores e automóveis próprios.



Quadro 15 - Recepção da Central Bela Vista (A). Auditório para reuniões (B).
Fonte- Acervo do Autor, Botucatu, São Paulo (2017)

Foi possível acompanhar toda a rotina da empresa, desde o agendamento dos touros para as montas e coletas diárias, ao congelamento de sêmen e

estocagem. A central se subdivide em setores, onde 34 funcionários realizam diversas funções, como serviços operacionais, departamento financeiro, relacionamento comercial e diversos outros.

A Central de Coleta é localizada centralmente aos diversos piquetes dos touros (Quadro 16 A), local com melhor altitude da propriedade. Este espaço conta com uma estrutura totalmente planejada, contendo a área para coleta simultânea de vários animais (Quadro 16 B), dispendo de fêmeas como manequins (Quadro 16 C). Possui também, Sala de Assepsia, para manipulação dos utensílios da coleta, Almojarifado, Copa e outros.



Quadro 16 - Área dos piquetes dos touros (A). Central de Coleta de Sêmen (B). Touro e manequim no momento da coleta (C).

Fonte- Imagens cedidas por Fabíola e Maza, Botucatu, São Paulo (2017)

Na Sala de Assepsia, a operadora realiza a lavagem da vagina e da mucosa (com ranhuras) artificial em água morna e direciona os mesmos para

uma estufa especial, que através de vapor, seca estes itens (Quadro 17 A). De acordo com a secagem das vaginas artificiais, as mesmas são novamente montadas e mantidas em outra estufa, apenas para retirada no momento da coleta (Quadro 17 B).

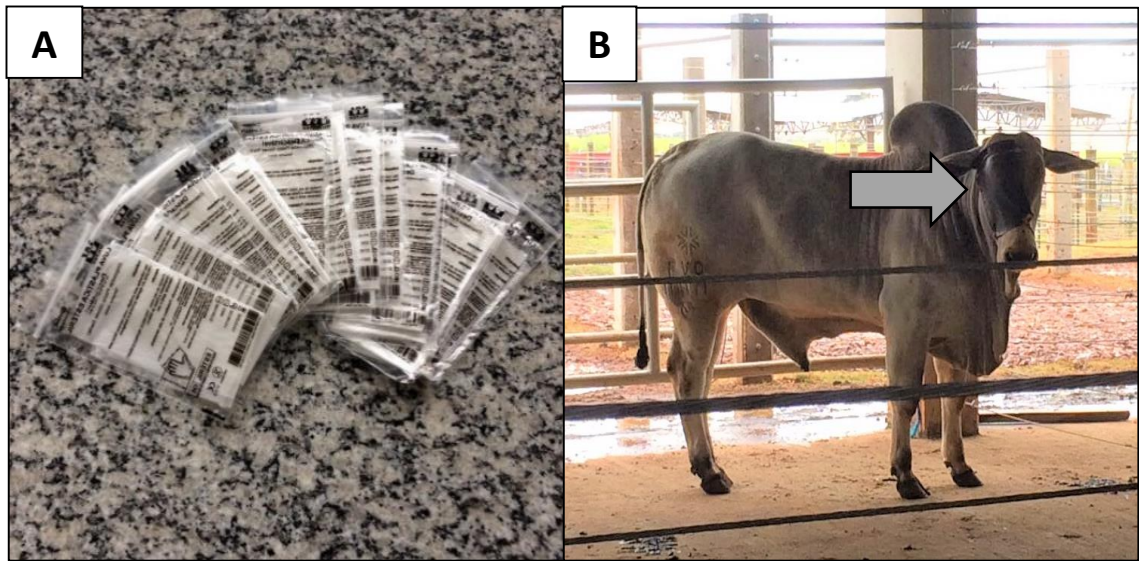


Quadro 17 - Secadoras para vagina artificial (A). Estufa com as vaginas artificiais prontas (B).
Fonte- Imagens cedidas por Fabíola e Maza, Botucatu, São Paulo (2017)

Na vagina são acoplados itens de segurança, como o cone plástico, para encaixe do tubo, tipo *Falcon*® 15 mL, que receberá o sêmen, e por sua vez, esse tubo é mantido dentro de outro, com maior capacidade de volume e contendo água em temperatura de 40° C. O tubo recebe uma amarração especial, para que com a pressão gerada pelo salto do touro, o tubo não escape da estrutura; e além destes, a vagina recebe uma capa de couro, protegendo ainda mais o sistema.

Além do cuidado da montagem da vagina artificial, os tubos recebem uma etiqueta impressa, referente a identidade do touro, que será interpretada em laboratório. Cada touro possui duas etiquetas, que identificam os dois saltos que devem ser realizados por animal.

Os coletadores devem usar luvas descartáveis (Quadro 18 A) e lubrificante na extremidade externa da vagina. Quando os touros têm o temperamento mais agressivo que o normal, são direcionados para um compartimento específico, e recebem uma capa ocular, de forma a facilitar a coleta (Quadro 18 B).



Quadro 18 - Luvas descartáveis especiais (A). Touro com capa (seta) ocular (B).
 Fonte- Imagens cedidas por Fabíola e Maza, Botucatu, São Paulo (2017)

Além da grande área de coleta disponível, a Central de Coleta dispõe de um tronco hidráulico (Quadro 19 A), totalmente acolchoado, para eventuais contenções. Nos casos em que o touro não consegue realizar a monta, por diversos motivos, a equipe entra em contato com o proprietário do animal em busca de permissão para realizar a coleta por estímulo de um eletroejaculador. Apenas com a liberação do possuinte é possível realizar tal procedimento. O animal recebe uma lavagem prepucial a base de Kilol-L® (Quadro 19 B).



Quadro 19 - Tronco de contenção hidráulico (A). Lavagem prepucial a base de Kilol-L® (seta) (B).

Fonte- Acervo do Autor, Botucatu, São Paulo (2017)

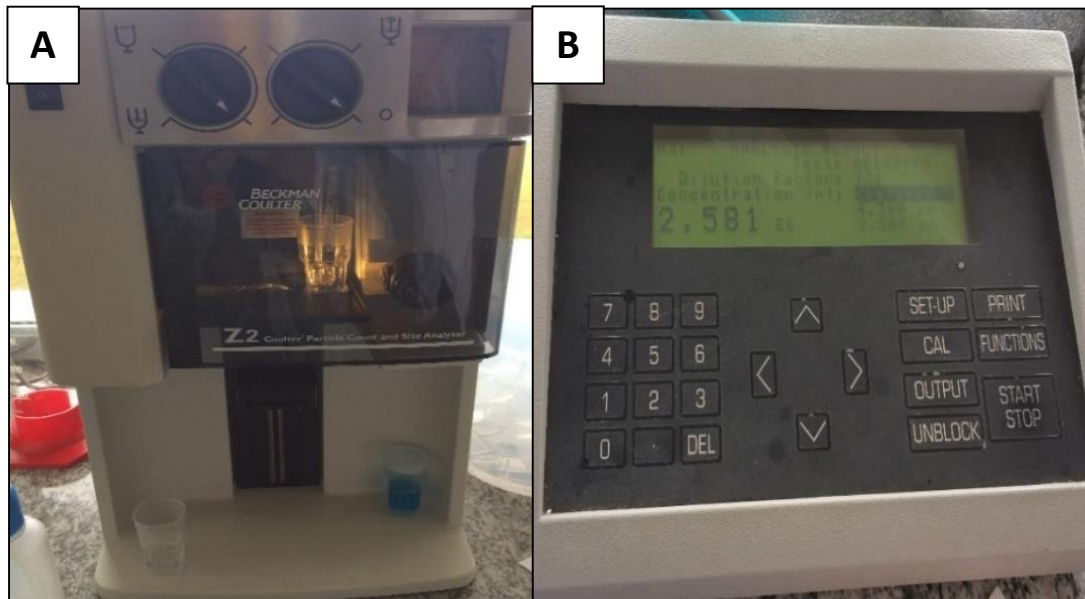
Após a coleta de sêmen, os tubos são encaixados em um recipiente recoberto por espuma (Quadro 20 A/B), e então colocados em um sistema de

transporte, via duto subterrâneo (Quadro 20 C/D), que leva cerca de 20 segundos para enviar o recipiente ao Laboratório de Sêmen.



Quadro 20 - Recipiente para transporte de sêmen (A, B). Duto subterrâneo (seta) (C).
Fonte- Acervo do Autor, Botucatu, São Paulo (2017)

No Laboratório de Sêmen etapas criteriosas são executadas. Assim que o sêmen chega, transportado pelo duto, os tubos são colocados em banho seco e recebem uma etiqueta nova, posteriormente as amostras, de forma individual, são diluídas no aparelho *MicroLab Controller* (Hamilton®) e a concentração espermática é calculada pelo *Beckman Coulter*® (Quadro 21 A), por fotometria, que gera os valores em um painel eletrônico (Quadro 21 B) e esses dados são anotados.



Quadro 21 - Contador (A) e painel de concentração espermática (B).
 Fonte- Acervo do Autor, Botucatu, São Paulo (2017)

O volume, em seguida, é mensurado por balança de precisão e os dados de concentração e volume, então, são lançados no sistema. A partir dessas informações, um cálculo é gerado para definir quantas palhetas comerciais a amostra de sêmen irá produzir. Entretanto, antes do processo de diluição e direcionamento para a câmara fria, o sêmen deve ser avaliado morfológicamente, de forma a conhecer dados sobre as patologias dos mesmos.

A análise morfológica é realizada através de microscópio, modelo *Olympus BX53*®, que possui a fonte de iluminação de halogênio 12V/100W, que oferece iluminação clara e balanceada para os métodos de observação de campo claro e contraste. O condensador universal de oito posições motorizado e o porta-objetiva codificado estão integrados ao software *cellSens*, para alterar automaticamente os encaixes de contraste quando da mudança da ampliação.

O tubo contendo o sêmen é mantido em banho-maria a 35°C e as lâminas, lamínulas e ponteiras, que serão utilizadas para a análise, são dispostas em placa aquecedora, em mesma temperatura. As anotações pertinentes de defeitos dos espermatozoides são lançadas em contador específico (Figura 2), onde os botões têm os desenhos dos defeitos, e os mesmos quando acionados, lançam os dados diretamente no sistema operacional.



Figura 2 - Contador de células espermáticas, com a ilustração dos defeitos (seta).
Fonte- Acervo do Autor, Botucatu, São Paulo (2017)

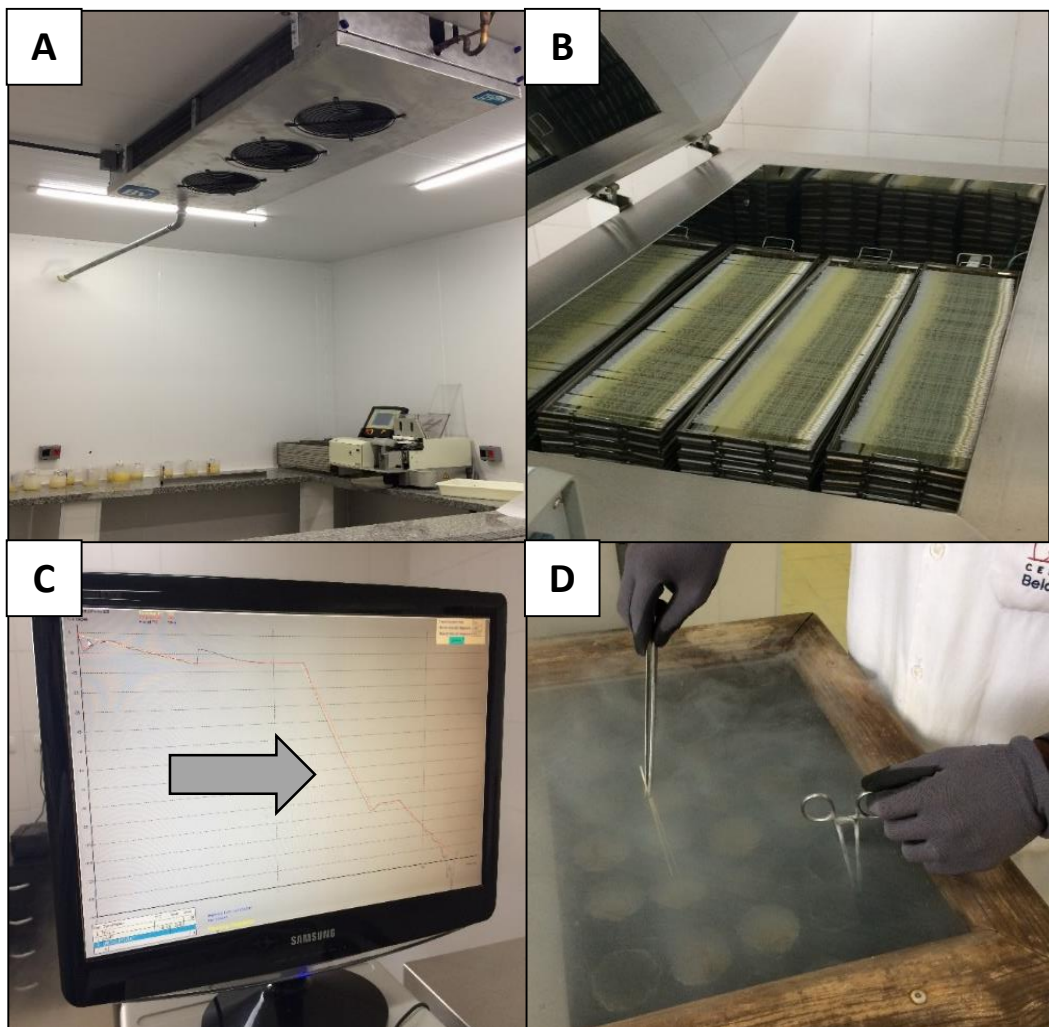
Se o animal é classificado como inapto, por possuir defeitos totais maiores que os permitidos, a amostra é descartada e o touro recebe orientações especiais de manejo. O sêmen aprovado, recebe através do sistema, a quantidade exata de diluidor que deverá ser utilizada para a quantidade de palhetas, pré-determinadas pela concentração espermática.

O diluidor, que é feito à base de gema de ovo pasteurizada resfriada (SinaCheff©), é mantido em banho-maria, e irá se unir à amostra de sêmen em béqueres esterilizados e armazenados em estufa, à 35°C. Posteriormente à criteriosa avaliação de morfologia, as palhetas são separadas e impressas, contendo o nome da central, propriedade de origem do touro, nome do touro, data do congelamento e número do salto, que varia de 1 à 2.

Os béqueres são encaminhados para a câmara fria, que possui temperatura de 4°C (Quadro 22 A), e os mesmos ficam dispostos lado a lado das palhetas impressas e ficha de conferência de produção. Nesse momento as amostras de sêmen, diluídas e prontas para embalagem, são submetidas à pressão de canudos plásticos do equipamento selador de palhetas, da marca *IMV Technologies*®.

Existe um aparelho específico para palhetas médias e outro para as palhetas finas. De acordo com o preenchimento dessas palhetas pelo equipamento, as mesmas são encaminhadas, pelo operador, para uma mesa de palhetas, de forma que estas se encaixem em grandes formas e sejam direcionadas para o processo de congelamento.

As formas são direcionadas para um tanque que recebem um bombeamento de nitrogênio através de criodifusor (Cryo Diffusion®), e por intermédio do sistema da *IMV Technologies®*, há uma curva de congelamento, onde as palhetas com sêmen atingem -145°C (Quadro 22 B/C). Com a temperatura final da curva finalizada, as formas são direcionadas para outro tanque, reforçado para o recebimento de nitrogênio líquido em alta escala, onde são separadas por animal e partida (Quadro 22 D).



Quadro 22 - Câmara fria (A). Formas contendo as palhetas em tanque de congelamento (B). Monitor indicando a progressão da curva (seta) de congelamento (C). Direcionamento das palhetas para as canecas (D).

Fonte- Acervo do Autor, Botucatu, São Paulo (2017)

Por fim, as palhetas congeladas e prontas para estocagem são armazenadas em canecas catalogadas, nos botijões de nitrogênio. Os botijões são direcionados para o Banco de Sêmen da empresa, através de uma mini porta de mútuo acesso ao Laboratório e ao Banco de Sêmen. A partir desse momento, os produtos estão à disposição da comercialização.

3.8.2 *In Vitro* Brasil

Fundada em 2002, a empresa *In Vitro* Brasil (IVB) surgiu para atender o mercado de produção *In Vitro* de embriões bovinos. O mercado de FIV no Brasil era voltado para o gado Nelore de elite. As limitações, na época, que a técnica apresentava tornaram-se uma oportunidade. No ano de 2015, mercou 51% de suas ações para o grupo Genus PLC, detentor das empresas PIC e ABS Pecplan.

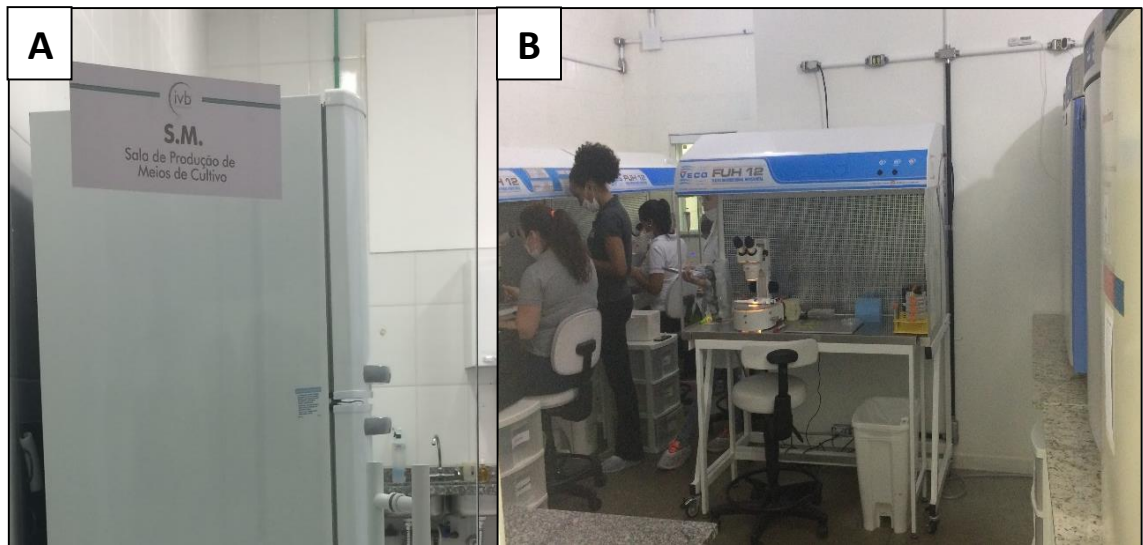
Atualmente, o Grupo conta com 37 laboratórios, entre próprios e afiliados, distribuídos em 17 países. Com sede na cidade de Mogi Mirim (Quadro 23 A), Estado de São Paulo, a matriz possui uma criteriosa área laboratorial e setores à campo; divididos em galpões (Quadro 23 B), piquetes para as vacas, de acordo com sua produção, bezerreiro, sala de ordenha e outros.



Quadro 23 - Recepção *In Vitro* Brasil (A). Galpão para alojamento dos clones (B).
Fonte- Acervo do Autor, Mogi Mirim, São Paulo (2017)

Entre os principais avanços conquistados pela empresa, têm destaque a viabilização do uso de sêmen sexado na fertilização *In Vitro* (FIV), tecnologia de transporte de embriões para longas distâncias e a vitrificação eficiente de

embriões FIV. A IVB iniciou a implantação de um sistema de afiliação, nível nacional e internacional, onde outros laboratórios de FIV passaram a ter a oportunidade contar com o *know-how* do Grupo na execução de projetos de embriões. A produção dos meios de cultivo é realizada especificamente, por uma profissional do laboratório de Mogi Mirim, que mantém o padrão do meio com melhores resultados, conforme desejado pela empresa (Quadro 24 A). Demais produções são executadas nos laboratórios adjacentes (Quadro 24 B).



Quadro 24 - Sala de Produção de Meios de Cultivo (A). Laboratório de PIV (B).
Fonte- Acervo do Autor, Mogi Mirim, São Paulo (2017)

Com mais de 100 clones entregues até o momento, a IVB trabalha produzindo clones de equinos, ovinos e caprinos. Para realizar a clonagem, uma possibilidade é utilizar o núcleo de uma célula não reprodutiva ou somática de um indivíduo, e posteriormente inseri-lo em um óvulo que teve seu núcleo com DNA retirado ou fundir uma célula inteira com um óvulo sem o material genético.

O armazenamento de material genético por meio de linhas celulares congeladas é um excelente seguro biológico, uma vez que as células podem ser mantidas congeladas em nitrogênio líquido, por um baixo custo e por tempo indeterminado, até a decisão da clonagem. Para o armazenamento adotado pela IVB é necessário fazer uma biópsia de pele (região do pescoço ou cauda) do animal, e a biópsia é processada no laboratório para produzir a linha celular.

Devido a contemporânea demanda de mercado, a empresa que atendia apenas animais de produção, como clones de bovinos (Quadro 25 A) e equinos

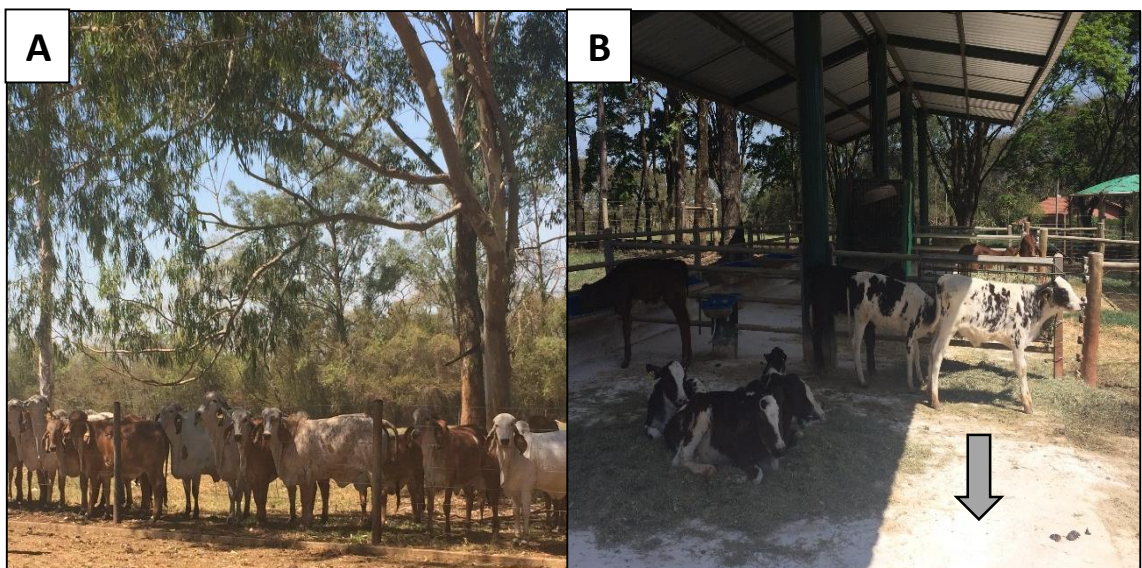
(Quadro 25 B), atualmente já iniciaram estudos na área de pequenos animais domésticos, como cães e gatos.



Quadro 25 - Clone de bovino da raça Nelore (A). Clone de potro da raça Mangalarga Marchador (B).

Fonte- Acervo do Autor, Mogi Mirim, São Paulo (2017)

A propriedade da sede conta também com a produção de vacas leiteiras e comercialização do produto (Quadro 26 A). Existem dois retiros, e as vacas são, geralmente, ordenhadas duas vezes ao dia. Os bezerros do local recebem cuidados e instalações especiais, como cal no solo do piquete, telas para conforto térmico; de forma que a taxa de mortalidade desses animais gira em torno de $\leq 2\%$ (Quadro 26 B).



Quadro 26 - Vacas para produção de leite (A). Cal (seta) no solo dos piquetes para bezerros (B).

Fonte- Acervo do Autor, Mogi Mirim, São Paulo (2017)

O alto desempenho e o crescimento sustentável colocou a empresa em destaque nos mercados globais. A sede dispõe de uma área de manejo de dejetos (Quadro 27 A), onde toda a água utilizada na produção é tratada e reutilizada para a irrigação de cultivos da propriedade (Quadro 27 B).



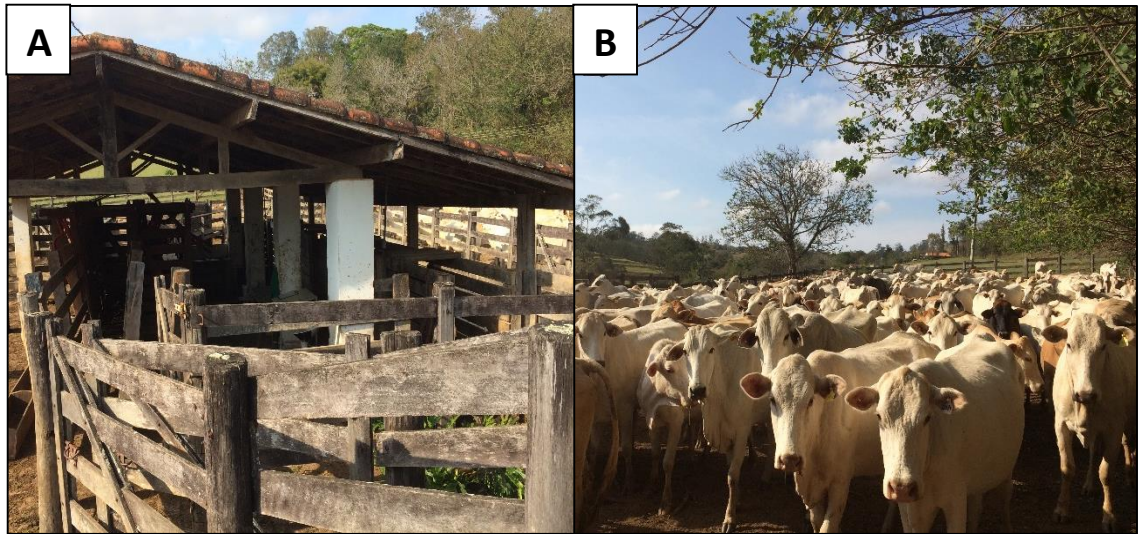
Quadro 27 - Tratamento da água local (A). Utilização (seta) da água tratada em irrigação (B).
Fonte- Acervo do Autor, Mogi Mirim, São Paulo (2017)

Através da experiência em acompanhar empresas de alto impacto no âmbito das biotecnologias em Reprodução Animal, conhecimentos extremamente importantes sobre o mercado de trabalho podem ser aplicados ao *networking* do estagiário; como planejamentos estratégicos, marketing de vendas, gestão do relacionamento com o cliente, logística e anseios do consumidor.

3.9 Cursos Profissionalizantes

3.9.1 Curso de Avaliação Ginecológica e Eficiência Reprodutiva em Fêmeas Bovinas

O curso foi ministrado pela empresa DG Torres Assistência Veterinária, na Fazenda Santa Helena, município de Morungaba – SP (Quadro 28 A). A propriedade dispunha de um curral com cinco bretes de contenção e 400 animais, além do auxílio de cinco monitores durante as atividades (Quadro 28 B).



Quadro 28 - Curral para realização da parte prática do curso (A). Total de 400 animais disponíveis para o curso (B).

Fonte- Acervo do Autor, Morungaba, São Paulo (2017)

O curso teve duração de três dias, contando com avaliações individuais de frequência, interesse, habilidade prática e conhecimento teórico, todos os critérios variando de 1 a 5, dispostos ao final do curso no verso do certificado, que fora emitido aos participantes.

Foram ministradas aulas teóricas (Figura 3) e práticas, com base nos temas- Fisiologia neuro-endócrina da reprodução da vaca; Ciclo reprodutivo e anestro; Diagnóstico de gestação e exame ginecológico; Diagnóstico das diferentes fases de gestação; Exame ginecológico de animais não gestantes; Avaliação ginecológica; Involução uterina; Diagnóstico de endometrites e patologias de ovário e discussão de casos clínicos.



Figura 3 - Ministração teórica do curso.

Fonte- Imagem cedida por Caio Freitas, Morungaba, São Paulo (2017)

As aulas teóricas, dispunham de material didático, segundo o *Método Shiva*, criado pela Nova Índia Genética e Embrapa; desenvolvimento de Northon Fenerich, produção de Wilson C. Iguti e como responsável técnico, J. Henrique Bruschi (Quadro 29).



Quadro 29 - Equipamentos didáticos que constituíram a parte teórica do curso.
Fonte- Acervo do Autor, Morungaba, São Paulo (2017)

A prática do curso consistiu em palpar transretalmente animais em diversas fases do ciclo estral, quando vazias, e em diferentes tempos de gestação, quando prenhes. Todos os inscitos foram submetidos à avaliações práticas de cada animal diagnosticado, recebendo uma média parcial. Além desta forma de avaliação, critérios como interesse, assiduidade e teste teórico, abrangendo todo o conteúdo trabalhado durante o curso, foram creditados para gerar a média final do aluno.

3.9.2 Curso Teórico-Prático de Ultrassonografia Doppler para Diagnóstico Superprecoce de Gestação

O curso foi ministrado pela empresa Ouro Fino Saúde Animal em parceria com os professores do Departamento de Reprodução Animal da Universidade de São Paulo; Pietro Sampaio Baruselli, Ed Hoffmann Madureira e Guilherme Pugliesi. O mesmo foi realizado no VRA do Campus de Pirassununga, com duração de dois dias e disponibilidade de oito aparelhos de ultrassonografia com

modo Color-Doppler.

O curral do Campus de Pirassununga, da Universidade de São Paulo, dispõe de sete bretes de contenção, localizados em um extenso galpão, que facilita a participação de vários técnicos de forma simultânea, na prática da avaliação ultrassonográfica com Color-Doppler.

A programação contou com dois módulos; o módulo teórico abrangeu os temas- Fisiologia e endocrinologia da reprodução em bovinos, Dinâmica folicular e luteínica em bovinos; Bases teóricas do controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação em bovinos; Eficiência de programas de IATF com Ressincronização.

O módulo prático abordou os conteúdos- Critérios de avaliação e regulação dos equipamentos, Diagnóstico superprecoce de gestação por ultrassonografia Color-Doppler em protocolos de ressincronização. Os alunos de especialização do VRA auxiliaram todos os manejos, e um representante comercial da marca de ultrassons *SonoScape®* marcou presença, auxiliando nas dúvidas sobre a manutenção dos aparelhos (Figura 4).



Figura 4 - Equipamentos didáticos que constituíram a parte prática do curso.
Fonte- Acervo do Autor, Pirassununga, São Paulo (2017)

Basicamente, a utilização do Color-Doppler nesta avaliação superprecoce é necessária pois o diagnóstico é feito com base na circulação ovariana. Nesse tipo de exame, não se busca avaliar o útero como nos diagnósticos convencionais. A imagem deve revelar, em animais prenhes, um CL com tamanho maior que 2 cm e irrigação maior que 25% ou escore 2-2.

Com base neste curso, foi possível conhecer a técnica de modo completo; as formas de avaliação, dicas para a interpretação de imagens, além do total suporte pela equipe de pesquisadores, que incentivaram e assessoraram a prática da ferramenta durante todo o *workshop*.

4 EXPERIMENTO ACOMPANHADO: APLICAÇÕES DO COLOR-DOPPLER NO CONTROLE REPRODUTIVO DE FÊMEAS BOVINAS-RESSINCRONIZAÇÃO SUPERPRECOCE

4.1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

No primeiro trimestre de 2017, foram abatidas 7,37 milhões de cabeças de bovinos sob algum tipo de serviço de inspeção sanitária. Essa quantidade foi 0,5% menor que a registrada no trimestre anterior e 0,7% maior que o primeiro trimestre de 2016. O Gráfico 2 mostra que após dois anos de quedas consecutivas no abate de bovinos, nos comparativos entre os primeiros trimestres, o abate de bovinos retoma crescimento no primeiro trimestre de 2017 (IBGE, 2017).

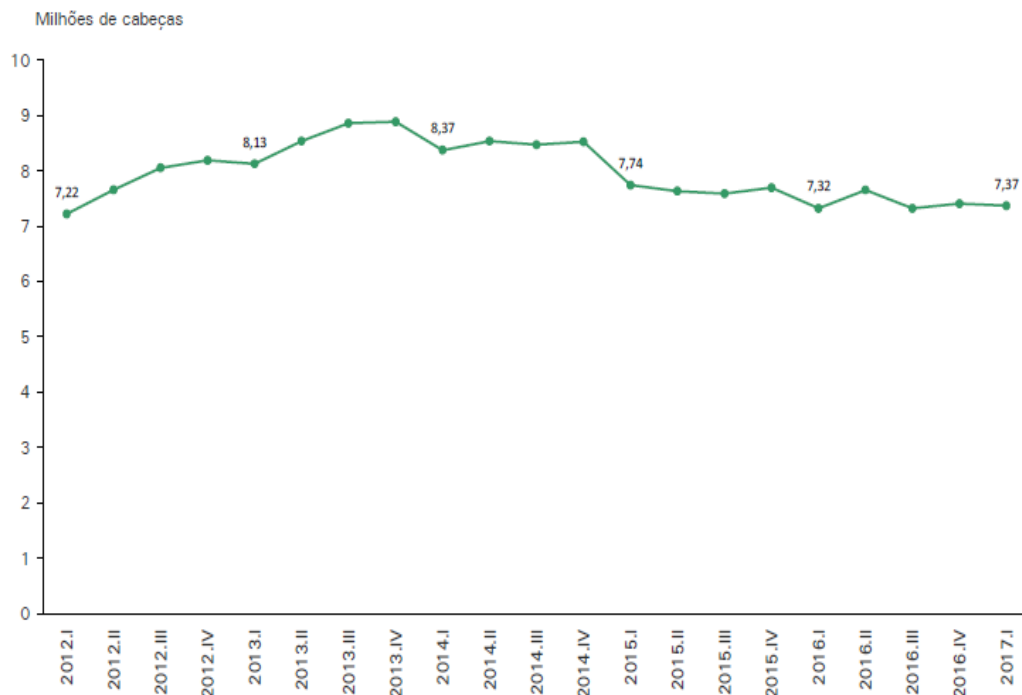


Gráfico 2 - Evolução do abate de bovinos por trimestre (2012 – 2017).

Fonte- IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação e Agropecuária, Pesquisa Trimestral do Abate de Animais, 2012-2017.1.

O abate de 49,62 mil cabeças de bovinos a mais no primeiro trimestre de 2017, em relação ao o mesmo período do ano anterior, foi impulsionado por aumentos em 11 das 27 Unidades da Federação. Os aumentos mais intensos

ocorreram em Goiás (+97,26 mil cabeças), Tocantins (+27,53 mil cabeças), Rondônia (+25,43 mil cabeças), Pará (+16,72 mil cabeças) e Bahia (+15,67 mil cabeças); demonstrando o potencial para expansão dessas regiões (Gráfico 3) (IBGE, 2017).

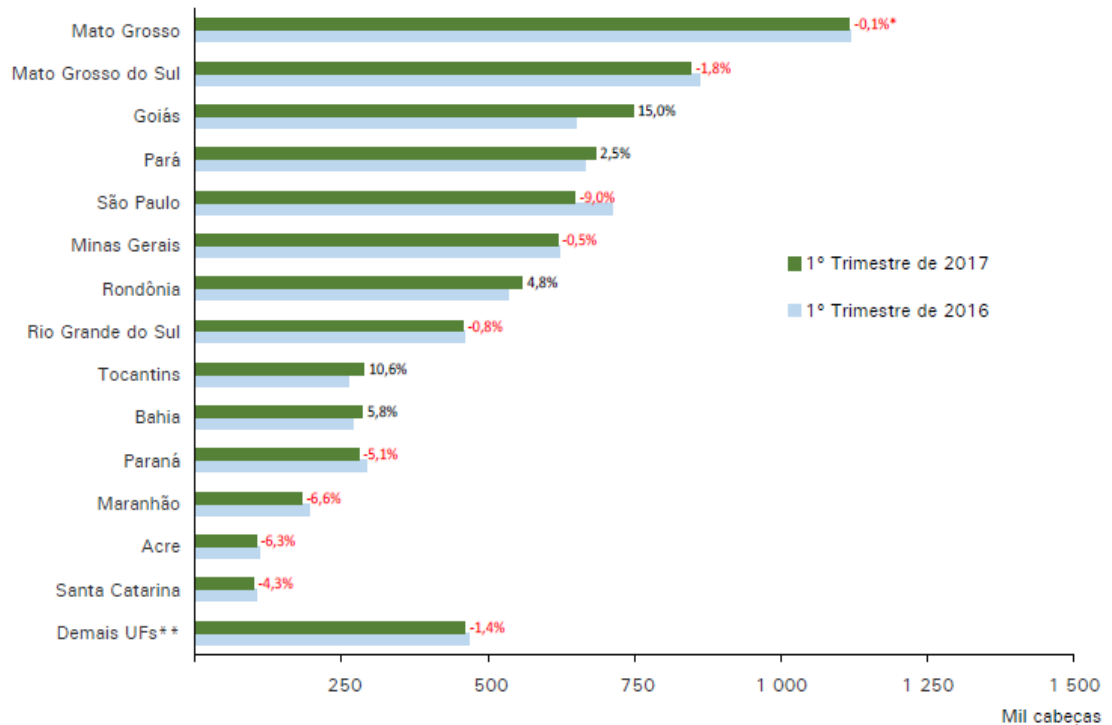


Gráfico 3 - Ranking e variação anual do abate de bovinos – Unidades da Federação Primeiros trimestres de 2016 e 2017.

Fonte- IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação e Agropecuária, Pesquisa Trimestral do Abate de Animais, 2016.1 e 2017.1.

O Brasil detém o segundo maior rebanho de bovinos do mundo, atrás somente da Índia (USDA/FAO, 2016). Enquanto o Brasil detém 14,4% do rebanho mundial (210 milhões de bovinos), os EUA (90 milhões de bovinos), por exemplo, possuem 6,1%. Contudo a produtividade de carne brasileira é cerca de 15,2%, enquanto os EUA produzem 18,6% (FAOSTAT, 2014). Para que a bovinocultura brasileira alcance níveis elevados de produtividade, com qualidade, a eficiência reprodutiva e o melhoramento genético merecem atenção.

Os dados do rebanho bovino brasileiro ainda apresentam baixa eficiência reprodutiva, com taxas de prenhez que beiram os 60%. Essa condição influencia no custo de produção, pois o capital investido nas vacas que não ficaram gestantes e que ocuparam a terra, deve ser diluído pelos bezerros produzidos (ANUALPEC, 2004).

Dentre as causas de baixa fertilidade, salientam-se o elevado intervalo entre partos, e elevada idade ao primeiro parto, as perdas embrionárias, que ocorrem geralmente, no período crítico do reconhecimento da gestação (MACHADO, 2008). Quanto aos resultados observados na aplicação da IATF os resultados variam entre 25 e 67%, de acordo com inúmeros fatores de potencial interferência nas taxas observadas em cada programa (BARUSELLI, 2004).

Segundo Vasconcelos (2017), a possibilidade de vacas parirem mais cedo é importante com relação ao peso a desmama. Os bezerros que nascem tarde, levam mais tempo para serem terminados, gerando alto custo para o sistema. O mesmo acontece com as fêmeas, entre bezerras que nasceram mais cedo, a maior proporção fica gestante ao final da EM, quando expostas (Tabela 2). Então o emprenhar e o nascer mais cedo permite bezerros mais pesados e precoces.

Tabela 2 - Mês de nascimento relacionado à taxa de prenhez em novilhas.

*a, b – letras diferentes na coluna diferem estatisticamente ($P < 0,05$)

Fonte- Vasconcelos, BeefPoint, 2017.

Mês de Nascimento	n	Taxa de Detecção	Taxa de Prenhez Final EM
8	22	59,1%	84,4%a
9	75	58,7%	81,3%a
10	84	60,7%	79,8%a
11	67	49,3%	62,7%b
12	33	48,5%	63,6%b

Para se obter melhores ganhos genéticos e de produção, estratégias reprodutivas devem focar no aumento da proporção de vacas criando bezerros provenientes de IA, pela melhoria das taxas de serviço e reduzindo o intervalo entre inseminações sem comprometer a viabilidade da gestação já estabelecida (SÁ FILHO *et al.*, 2014).

Segundo os dados da Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA) (2016), 13.024.136 doses de sêmen foram comercializadas (INDEX ASBIA representa 90% do mercado de sêmen no Brasil) e 11.037.119 protocolos de IATF foram realizados. Enquanto apenas 5 a 6% das matrizes em reprodução eram realizadas pela inseminação em 2002, em 2016, cerca de 10 a 12% das matrizes são inseminadas. A detecção de cio e inseminação artificial declinou, enquanto a IATF cresceu no longo dos anos (Gráfico 4).

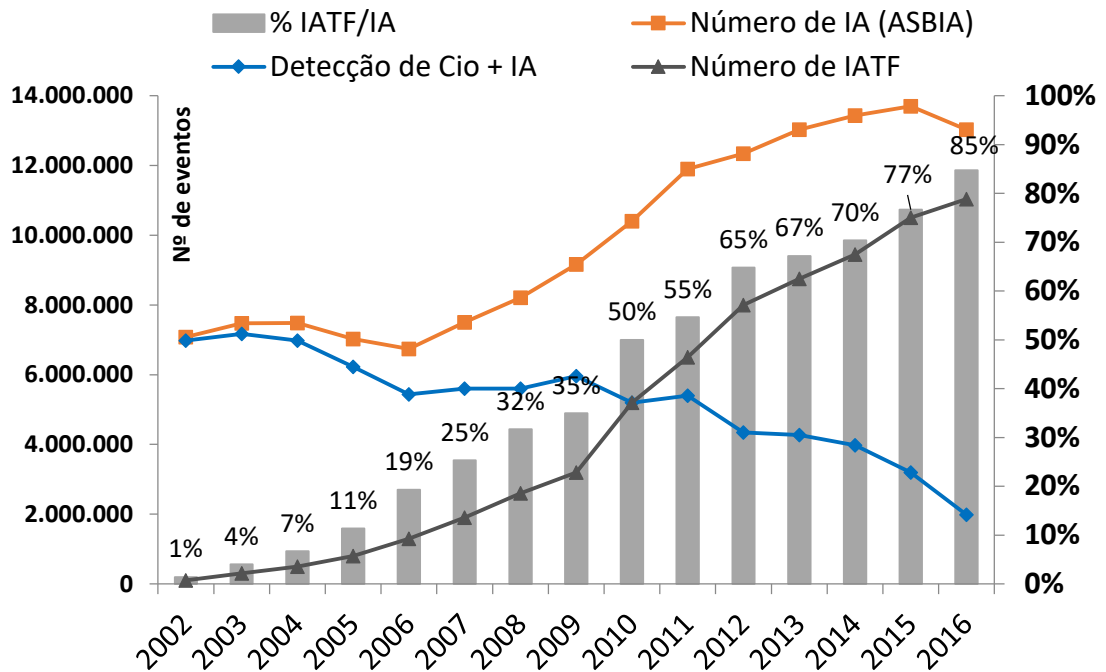


Gráfico 4 - Mercado da IATF no Brasil.
 Fonte- Departamento de Reprodução Animal, Pietro Baruselli, 2016.

É comprovado que a IATF traz inúmeras vantagens para o pecuarista, uma delas, é o incremento genético que o rebanho pode receber. Segundo Baruselli (2017), um rebanho de corte que insemina as fêmeas com o sêmen de um touro com DEP 10 Kg ao desmame, em comparação a um rebanho que utiliza a MN, e o reprodutor possui DEP 0 Kg ao desmame, tem resultados discrepantes (Gráfico 5). Já na segunda geração o produtor irá ver os resultados do ganho genético e retorno financeiro por Kg a mais de bezerro.

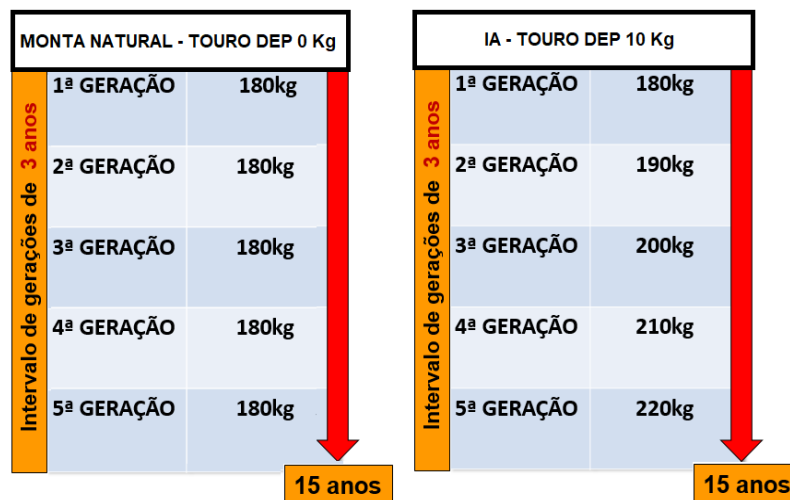


Gráfico 5 - Exemplificação dos ganhos genéticos através do manejo reprodutivo de IATF.
 Fonte- Departamento de Reprodução Animal, Pietro Baruselli, Acesso em 2 Nov. 2017.

Inúmeros trabalhos revelam que é possível observar a taxa de prenhez obtida durante a EM, estabelecendo uma relação entre a aplicação da técnica de IATF com outros manejos reprodutivos convencionais. No entanto, mesmo com as vantagens relacionadas ao uso de programas de IATF, a sincronização da ovulação geralmente é feita após a indução da luteólise, que somente pode ser implementada num programa de ressincronização em vacas não gestantes, após o diagnóstico de gestação, nesse caso, com cerca de 30 dias.

Existem dois momentos distintos para o início da ressincronização, após 22 a 24 dias após prévia IATF (sem DG) e também há a possibilidade do início do próximo protocolo ser no momento do DG, por volta dos 30 a 32 dias após a primeira IATF; evitando a necessidade do uso de touros de repasse.

Para ganhar informações mais precisas sobre a fisiologia ovariana, Miyamoto *et al.*, (2006) começaram a observar em detalhes, o fluxo sanguíneo de folículos e corpos-lúteos usando a ultrassonografia em modo color-Doppler em vacas. A ultrassonografia em modo B não permite um diagnóstico de gestação durante as três primeiras semanas de gestação devido ao fato que a regressão funcional do corpo lúteo precede a regressão morfológica (LÜTTGENAU & BOLLWEIN, 2014).

Dessa forma, a adoção de biotecnologias capazes de melhorar os ganhos genéticos e índices reprodutivos, que devem focar no aumento da proporção de vacas parindo produtos provenientes de inseminação artificial, atuam melhorando as taxas de serviço sem comprometer a sobrevivência do embrião/feto (SÁ FILHO *et al.*, 2014).

Os custos de um protocolo de ressincronização superprecoce com a tecnologia Color-Doppler ainda são altos, principalmente em relação ao valor comercial da P4 injetável de curta ação que é utilizada, que chega a cerca de R\$ 12,50 por cabeça. Por se tratar de um programa relativamente novo, muitos testes ainda se encontram em atividade, avaliando a real necessidade da aplicação de P4 injetável de curta ação e utilização de implantes com alta concentração de progesterona.

O delineamento do experimento acompanhado objetiva revisar a metodologia da ultrassonografia através do Color-Doppler e testar os resultados da aplicação de diferentes dosagens da P4 injetável CA (Afisterone®) no

protocolo de resincronização superprecoce, em busca de um programa tanto eficaz como acessível.

4.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A ultrassonografia modo Doppler é uma ferramenta diagnóstica que permite a avaliação do fluxo nos vasos sanguíneos em *real time*. Ela possibilita a avaliação da direção, velocidade e turbulência do fluxo sanguíneo e a distinção entre vasos, cada um com seu padrão espectral. O efeito Doppler foi descrito em 1842, pelo austríaco Johann Doppler; comprovado experimentalmente na acústica em 1845, pelo alemão Christoph BuysBallot e descoberto em ondas eletromagnéticas em 1848, pelo francês Hippolyte Fizeau (CERRI *et al.*, 2008).

Esta técnica foi inicialmente desenvolvida em meados de 1980 com o intuito de se investigar a função cardíaca na medicina humana. A partir de então, vem sendo empregada na investigação da hemodinâmica em diversos órgãos, tais como os do trato reprodutivo e da hemodinâmica materna e fetal (LOUPAS & GILL, 1995, DI SALVO *et al.*, 2006).

O pesquisador Dr. O.J. Ginther afirmou, ainda na década de 80, que o diagnóstico ultrassonográfico é o avanço mais profundo no campo da pesquisa e da clínica reprodutiva de grandes animais (GINTHER, 1986 *apud* PUGLIESI, *et al.*, 2017). Dentre as diversas opções, a ultrassonografia convencional no modo brilho (B) é a forma mais usada e que proporciona uma imagem bidimensional dos órgãos e tecidos avaliados (PUGLIESI, *et al.*, 2017).

Dessa forma, o uso cotidiano da ultrassonografia no modo B, tem possibilitado uma melhor avaliação de fêmeas bovinas para iniciarem programas reprodutivos, como a IATF. O uso da ultrassonografia Color-Doppler transretal para estudos reprodutivos em animais de grande porte foi inicialmente descrito por pesquisadores alemães e suíços a partir de 1998 (BOLLWEIN *et al.*, 2002).

Seu potencial uso à campo baseia-se na capacidade de avaliar a funcionalidade de órgãos e/ou tecidos devido à menor ou maior perfusão sanguínea. Barbosa e Silva (2012) realizaram um levantamento bibliográfico acerca do emprego da ultrassonografia Color-Doppler em diversas espécies; vacas, éguas, cadelas, gatas e macacas-prego.

Podemos observar que as pesquisas com o Doppler rotulavam avaliações para caracterização da circulação, nas diferentes fases do ciclo estral, das artérias uterinas em vacas (BOLLWEIN *et al.*, 2000). O acompanhamento gestacional das artérias uterinas e ovarianas, evidenciou que os índices de resistência (IR) diminuíram continuamente durante as 36 primeiras semanas de gestação (BOLLWEIN *et al.*, 2002; PANARACE *et al.*, 2006), mantendo níveis relativamente constantes até o parto (BOLLWEIN *et al.*, 2002).

Foi observado, ainda, que o IR foi menor, o diâmetro do vaso e o volume do fluxo sanguíneo (VFS) foram maiores na artéria uterina ipsilateral ao concepto, quando comparados à artéria uterina contralateral ao concepto (BOLLWEIN *et al.*, 2002). Observou-se, também, que não há diferença entre a gestação de fetos machos ou fêmeas com relação aos padrões de IR, tempo médio de velocidade máxima (TMVM) e VFS (PANARACE *et al.*, 2006).

Bollwein *et al.* (2000) acompanharam o ciclo estral de quatro vacas e observaram a ocorrência de alterações nos padrões vasculares uterinos. Não encontraram diferenças significativas no IR entre as artérias uterinas esquerda e direita, sendo evidenciadas somente diferenças no TMVM entre as artérias em duas vacas durante o ciclo. Nesse mesmo trabalho, os autores encontraram correlação negativa entre as concentrações plasmáticas de progesterona e TMVM, não sendo evidenciada correlação entre esse hormônio e o IR.

Podemos observar que a sociedade científica buscava maiores informações sobre a aplicabilidade desse modo ultrassonográfico sob a grande área da obstetrícia. Os autores concluíram que os achados evidenciaram a importância da ultrassonografia Doppler para o monitoramento reprodutivo de fêmeas, embora o conhecimento na área ainda não fosse completo.

Apesar do grande conhecimento adquirido em relação as mudanças fisiológicas de perfusão sanguínea em órgãos, tecidos e componentes reprodutivos, só recentemente foram desenvolvidos estudos que possibilitaram novas estratégias de uso do Doppler com potencial para incorporação em programas reprodutivos comerciais que visam melhorar a eficiência reprodutiva.

Dentre as diversas possibilidades de avaliação, a ultrassonografia Color-Doppler vem sendo mais usada como uma técnica não-invasiva para estimar a funcionalidade do CL para seleção de receptoras e para o diagnóstico precoce da gestação em programas de IATF (PUGLIESI, *et al.*, 2017).

O uso desse equipamento é uma prática constante e que se consolida mais a cada dia, tanto em centros de pesquisa em reprodução como para veterinários de campo. Entretanto, a avaliação correta e a qualidade da imagem ultrassonográfica são dependentes da experiência e conhecimento do operador em relação as interações entre a onda sonora e os tecidos, além da configuração correta do equipamento (DESCÔTEAUX *et al.*, 2005).

A ultrassonografia tornou possível a realização de investigações diagnósticas quantitativas e qualitativas, com imagens tridimensionais e recursos do efeito Doppler. É um aparelho com potencial diferencial para o técnico veterinário, e diante a maior acessibilidade de crediário, o mercado para aquisição de equipamentos com qualidade e treinamento profissional, tem facilitado a incorporação dos exames ultrassonográficos no cotidiano de programas reprodutivos em vacas de corte e leite.

Entre os indicativos relacionados ao mundo dos negócios, o retorno sobre investimento (ROI) tem grande relevância para os investidores. Para realizar o cálculo do ROI, subtrai-se o ganho obtido do investimento e em seguida, divide-se esse valor por esse mesmo valor de investimento. Como é expresso em porcentagem o resultado deve ser multiplicado por cem (BONA, 2006).

Para a realização do cálculo, deve-se avaliar o custo do aparelho, o valor cobrado pela diária do técnico, o volume de serviços, seja dentro da EM ou em atividades diversas no decorrer do ano, custo do protocolo. Outra possibilidade de utilização da técnica é baseada na aquisição do equipamento pela propriedade; fazendas com grande volume de animais, que demonstrem a redução dos custos a partir do encurtamento da EM e bezerros mais pesados ao final do programa, tornam-se alternativas atrativas ao produtor.

4.2.1 Avaliações reprodutivas com a ultrassonografia Color-Doppler

4.2.1.1 Formas de avaliação

A maioria dos equipamentos de ultrassonografia Doppler atuais permitem três modos de avaliação da perfusão sanguínea- modo Espectral, modo Power-Doppler e modo Color-Doppler. O modo Espectral permite que a diferença da frequência detectada pelo equipamento seja projetada em um gráfico

bidimensional em função do tempo, e a onda Doppler é formada durante o ciclo cardíaco na avaliação do fluxo sanguíneo de artérias (PUGLIESI *et al.*, 2017).

Neste modo, alguns índices são calculados automaticamente pelo software dos equipamentos (índices de resistência e pulsatilidade) e são úteis para se estimar a perfusão sanguínea no tecido irrigado pelo vaso avaliado. O Doppler Pulsado ou Espectral transmite ondas sonoras curtas em pulsos com intervalos regulares (CERRI *et al.*, 2008), que permitem avaliar uma região específica no campo de imagem KANTROWITZ, B.M.; NYLAND, T. G.; FISHER, P. (2007); os sinais resultantes apresentam-se simultaneamente de forma audível, cuja intensidade do som é diretamente proporcional à velocidade do fluxo, e em gráficos.

O som arterial assemelha-se ao assovio, e o venoso, ao vento soprando (CERRI *et al.*, 2008). É empregado para mensurar parâmetros de fluxo sanguíneo, tais como velocidade de pico sistólico (PSV), velocidade diastólica final (EDV), índice de pulsatilidade (IP) e índice de resistividade (IR).

Em equipamentos com a função Color-Doppler, as diferenças de frequência são codificadas na forma de sinais coloridos na tela do equipamento sobre uma imagem em modo B (escala de cinza) convencional (PUGLIESI, *et al.*, 2017). O Doppler Colorido permite determinar rapidamente a presença, direção e qualidade do fluxo, mesmo em áreas vasos não visíveis na imagem bidimensional.

Diferenças positivas (fluxo sanguíneo em sentido ao transdutor) e negativas (fluxo sanguíneo em sentido contrário ao transdutor) são indicadas por cores diferentes, que são geralmente em tons de vermelho a amarelo e azul a verde, respectivamente. O sinal é codificado por cores de acordo com o sentido do movimento e por nuances em relação ao módulo da velocidade, sendo os fluxos mais rápidos expressos por tonalidades mais claras da mesma cor (SZATMÁRI, V.; SÓTONYI, P.; VOROS, K., 2001). Os volumes da amostra dispõem-se numa caixa colorida que tem tamanho e posição determinados pelo operador (CARVALHO, 2004).

Já o modo Power-Doppler é um método que permite a mensuração da intensidade do fluxo sanguíneo, (o número de células sanguíneas se movendo no vaso por unidade de tempo), e a imagem apresenta coloração de diferente

intensidade de acordo com a intensidade do fluxo em cada ponto da área avaliada.

O Power Doppler facilita a detecção de vasos finos ou de fluxo lento, sem informar sobre direção ou velocidade do fluxo (SZATMÁRI, V.; SÓTONYI, P.; VOROS, K., 2001). A imagem aparece com cor laranja e seu sombreamento na caixa de cor, enquanto o brilho colorido relaciona-se ao número de hemácias em movimento (NYLAND, T. G.; MATTON, J. S., 2005).

O Doppler Colorido é indicado para avaliação da integridade vascular e o Power Doppler, para o exame de vasos menores, como os vasos de fluxo lento dos testículos (OYEN, 2002). Tanto o Power Doppler como o Color Doppler podem ser utilizados para avaliação do CL.

As representações da perfusão sanguínea na tela podem ser estimadas pela proporção de sinais coloridos ou calculados por programas computacionais através da quantidade de pixels coloridos. Outra alternativa para avaliação é a determinação subjetiva através de uma escala de 0 a 4 para a área avaliada (SILVA & GINTHER, 2010).

4.2.1.2 Avaliação da perfusão uterina

Em bovinos, o Doppler foi inicialmente usado para detecção da circulação fetal (MITCHELL, 1973 *apud* PUGLIESI, *et al.*, 2017). Entretanto, usando os equipamentos atuais em modos Color e Espectral é possível avaliar a perfusão sanguínea no útero através da quantificação de sinais coloridos no endométrio e mesométrio ou através da avaliação dos índices de resistência e pulsatilidade na artéria uterina média (BOLLWEIN *et al.*, 2016).

A perfusão sanguínea no útero bovino apresenta um padrão bem definido durante o ciclo estral. Durante o pro-estro e estro são observados os maiores valores de fluxo sanguíneo; enquanto no diestro, o fluxo permanece em uma velocidade baixa, mas constante (BOLLWEIN *et al.*, 2016). Estas mudanças estão diretamente associadas as concentrações circulantes de progesterona e estradiol.

Nas vacas gestantes, alterações no suporte sanguíneo para o útero já são perceptíveis dentro de 3 semanas após a inseminação (BOLLWEIN *et al.*, 2016). No início da terceira semana, já se observa um aumento na perfusão sanguínea

no corno gestante em comparação ao corno não gestante (SILVA & GINTHER, 2010). Entretanto, devido à grande variabilidade no fluxo sanguíneo entre os animais, não é possível diagnosticar a gestação precocemente com uma simples mensuração do fluxo sanguíneo uterino com ultrassonografia Doppler.

4.2.1.3 Análise da funcionalidade do CL

As gônadas femininas estão sujeitas às constantes mudanças cíclicas, e alterações metabólicas exigem adaptações do suprimento sanguíneo aos órgãos para manutenção de boas condições reprodutivas (DIEHL, 2009). Devido a capacidade de avaliar indiretamente a função de estruturas e tecidos, a ultrassonografia Doppler vem sendo amplamente usada para avaliar a funcionalidade do folículo dominante e do CL ao longo do ciclo estral em éguas e vacas (ACOSTA *et al.*, 2005).

O desenvolvimento dos folículos ovarianos está estreitamente relacionado a formação da rede vascular na teca interna para prover nutrientes e suportar a esteroidogênese. Dessa forma, uma maior perfusão sanguínea é observada na parede folicular de folículos dominantes (MIYAMOTO *et al.* 2006).

Assim, a avaliação da vascularização na parede de folículos dominantes no início do proestro (dia da retirada de dispositivo intravaginal em protocolos de IATF) ou de folículos pré-ovulatórios no dia da IATF poderia indicar a funcionalidade folicular e ser uma ferramenta para predizer a gestação (PUGLIESI, *et al.*, 2007).

No entanto, em bovinos a avaliação da vascularização na parede do folículo pré-ovulatório no dia da IATF não indicou nenhuma relação com a taxa de concepção (PINAFFI *et al.*, 2015). Apesar da avaliação do tamanho de tecido luteal estar positivamente correlacionada com as concentrações circulantes de P4 e servir assim como um indicativo da função luteal, durante o período de regressão do CL esta correlação é menor devido as taxas de decréscimo serem mais rápidas para P4 do que para o tamanho do CL (KASTELIC *et al.*, 1990).

Assim, a avaliação da vascularização luteal pode representar a função do CL face a rica rede vascular presente nesta glândula transitória (BOLLWEIN *et al.* 2012). Além disso, a avaliação da perfusão sanguínea no CL pode ser bastante útil pois maiores concentrações de P4 no início do diestro estão

relacionadas com maior desenvolvimento do concepto (MANN AND LAMMING, 2001). Neste sentido, a vascularização do CL se inicia logo após a ovulação e é altamente correlacionada com as concentrações de P4 durante a sua fase de desenvolvimento que vai até o 8^o-10^o dias do ciclo estral (ACOSTA *et al.* 2003).

4.2.1.4 Detecção da luteólise para diagnóstico precoce da gestação

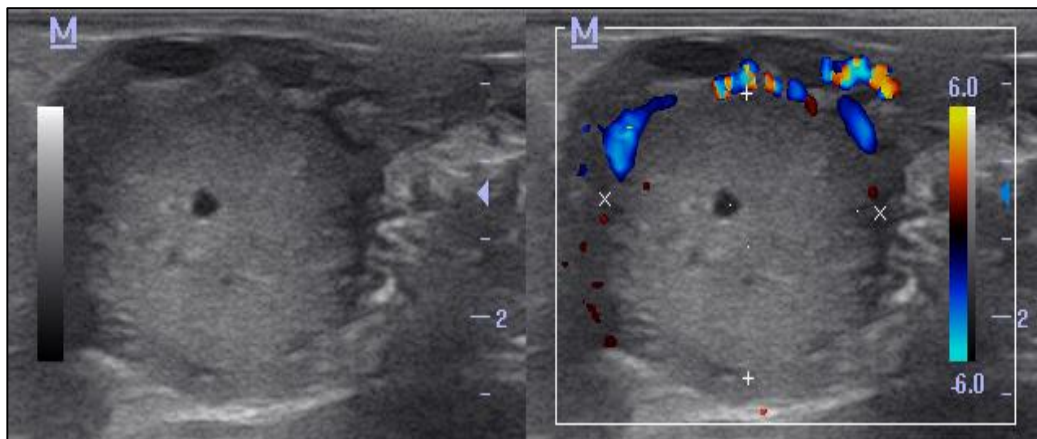
Apesar de pequenas estruturas indicativas da vesícula embrionária poderem ser observadas pela ultrassonografia entre 12-14 dias de gestação (PIERSON AND GINTHER, 1984 *apud* PUGLIESI *et al.*, 2017), e o embrião já poder ser identificado entre 19-24 dias (HANZEN & DELSAUX, 1987 *apud* PUGLIESI *et al.*, 2017), o diagnóstico ultrassonográfico em modo B só é recomendado após 28-30 dias (PIETERSE *et al.*, 1990). Isto permite que os veterinários sugiram um plano para ressincronização das vacas não-gestantes somente após o diagnóstico de gestação aos 30 dias pós-inseminação.

Entretanto, em vacas não-gestantes, o estro irá retornar normalmente entre 18 e 24 após a inseminação e após a regressão do CL que normalmente ocorre entre os dias 15 e 18 (GINTHER *et al.*, 2010; Pugliesi *et al.*, 2013). Assim, é sugestivo que a avaliação do CL em momentos próximos a sua regressão ou ao reconhecimento materno da gestação poderia permitir um acesso correto do status gestacional (PUGLIESI, *et al.*, 2017).

Kastelic *et al.*, (1991), reportaram que a simples avaliação do tamanho do CL associada ou não a ecotextura uterina pela ultrassonografia no modo B propiciam baixa acurácia (<75%) antes do dia 18 pós-inseminação; no entanto, uma alta acurácia (90-100%) já é observada quando a avaliação é realizada entre os dias 20 e 22 (PUGLIESI, *et al.*, 2017).

Apesar dessa boa acurácia só avaliando o tamanho do CL, as concentrações de P4 circulante, as quais indicam a funcionalidade luteal, possuem uma correlação maior com a perfusão sanguínea do que com o tamanho do CL durante o período luteolítico em ruminantes (HERZOG *et al.*, 2010; BALARO *et al.*, 2017).

Em um estudo realizado pela equipe do Departamento de Reprodução Animal - USP, avaliando somente a área do CL, foram verificados que do rebanho analisado, 24% dos animais prenhes possuíam um CL $<2\text{cm}^2$ e 2% dos animais com CL $\geq 2\text{cm}^2$, estavam vazias. Esta situação pode ser ilustrada conforme o Quadro 30.



Quadro 30 - Imagens de CL com área luteal $>2\text{cm}^2$, porém de animal não-gestante.
Fonte- Imagens cedidas por Romulo Germano, São Paulo (2017)

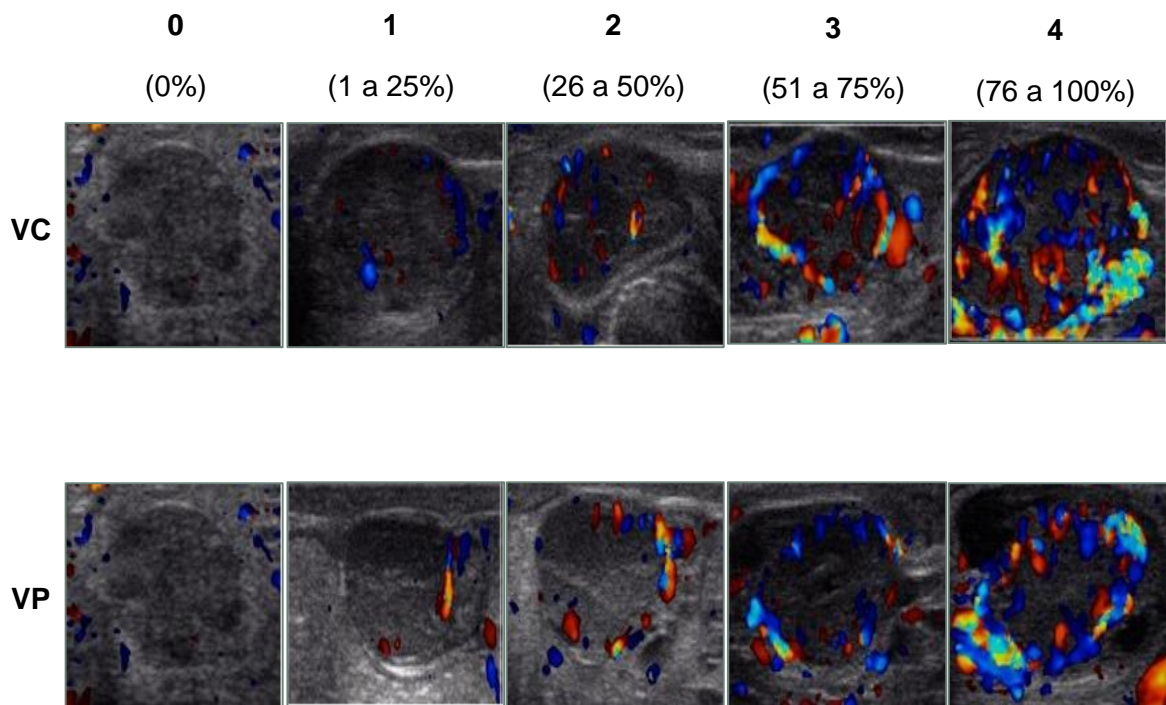
Estudos posteriores (UTT *et al.*, 2009; HERZOG *et al.*, 2011; PUGLIESI *et al.*, 2014b; SCULLY *et al.*, 2014) caracterizaram as mudanças na vascularização do CL entre vacas gestantes e não-gestantes. Os resultados obtidos possibilitaram a definição das características de vascularização e de tamanho do CL durante sua perda de função e serviu como base para a criação de critérios para identificar um CL funcional ou afuncional (PUGLIESI *et al.*, 2013).

No trabalho de Siqueira *et al.* (2013), foi avaliado o diagnóstico precoce modo Doppler, em bovinos de leite, aos 20 dias após a IATF; bem como bovinos de corte nos trabalhos de Pugliesi *et al.*, (2014). Foi encontrada uma alta acurácia e quase 100% de sensibilidade foram observados usando apenas a vascularização do CL como critério para identificar a gestação. Em gado de corte, o grupo de pesquisa de Pugliesi *et al.*, (2014) observou 100% de sensibilidade e 91% de acurácia quando foi usada a perfusão luteal associada ao tamanho do CL.

No estudo de Siqueira *et al.* (2013), foi considerado que não-gestante seria aquela fêmea que não apresentasse sinais coloridos indicando fluxo sanguíneo na região central do CL. Já em vacas de corte da raça Nelore (Pugliesi

et al. 2014), foi determinado que a vaca não-gestante seria aquela com sinais coloridos indicando fluxo sanguíneo <25% da sua área e < 2 cm².

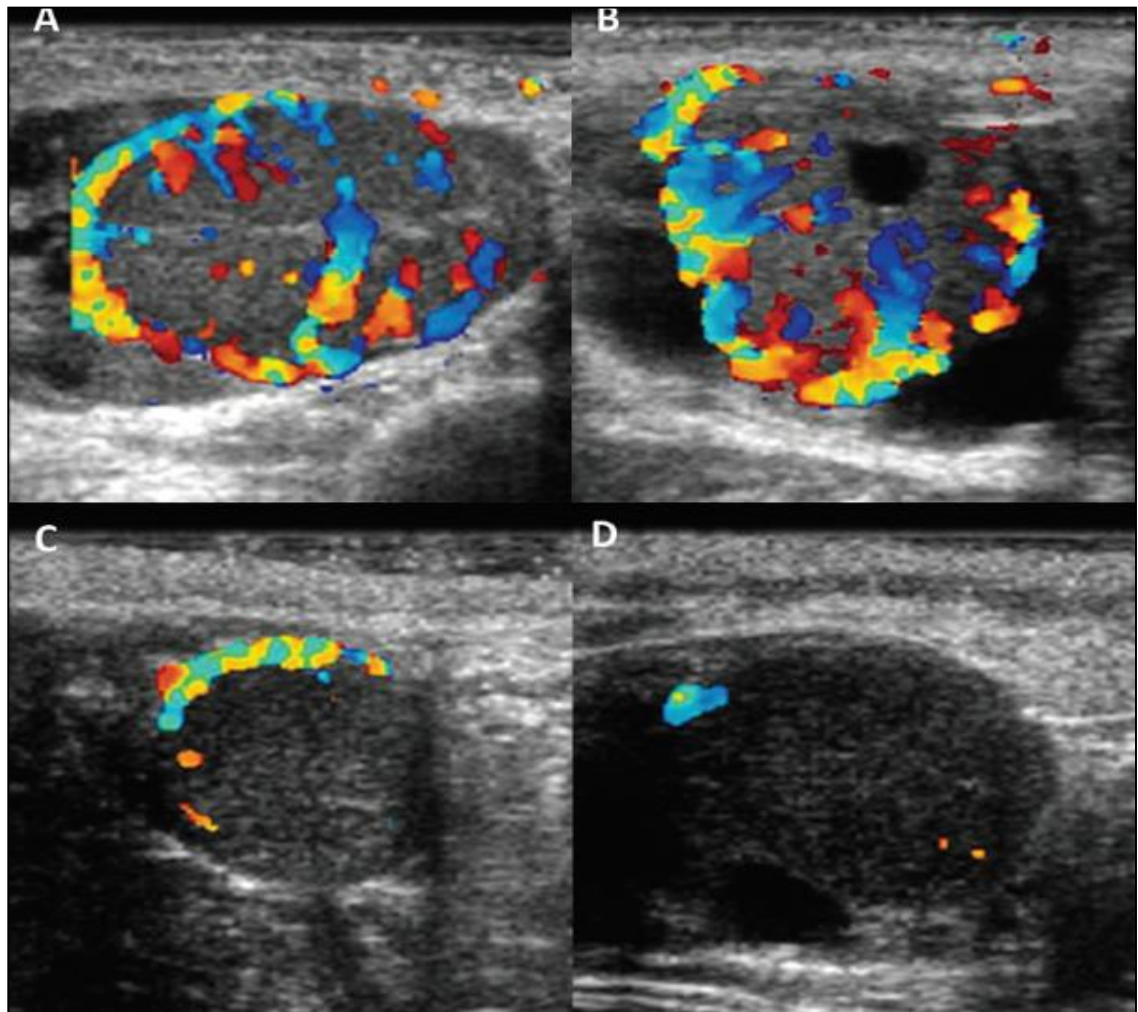
Este valor de proporção de perfusão sanguínea luteal, o qual é obtido através de uma avaliação subjetiva, pode ser transformado para uma escala mais simples e prática através de escores de vascularização, conforme indicado no Quadro 31. Desta forma, a avaliação da vascularização pode ser compreendida mais facilmente e ser assim usada de forma mais simples por veterinários para avaliar a funcionalidade do CL.



Quadro 31 - Classificação da funcionalidade do CL de acordo com a Vascularização Central (VC) e Periférica (VP) obtidas por imagens ultrassonográficas em modo color Doppler.
Fonte- Adaptado de Ginther (2007); Pugliesi *et al.* (2014).

Quando se usa não apenas a baixa perfusão sanguínea, mas também o tamanho reduzido do CL para se identificar uma vaca como não-gestante, ocorre uma menor chance de diagnóstico falso-negativo. Esse ponto é fundamental para uso da técnica, pois as perdas econômicas com uma maior proporção de resultados falso-negativos poderiam sobrepor o ganho com a antecipação da re-inseminação e assim inviabilizar esse tipo de estratégia em programas de IATF.

Por outro lado, também deve ser considerada no uso dessa técnica a proporção de resultados falso-positivos (em média 6%), ou seja, a proporção de vacas diagnosticadas como gestantes, mas que não estão gestantes quando confirmado pela ultrassonografia convencional no Dia 30. Estas situações são bem ilustradas no Quadro 32.



Quadro 32 - Quatro categorias possíveis observadas após o diagnóstico de gestação usando o fluxo sanguíneo do CL aos 20 dias após IATF. Positivo verdadeiro (A), falso positivo (B), falso negativo (C), e negativo verdadeiro (D). Adaptado de Siqueira *et al.*, (2013).

Essa parcela de resultados pode ocorrer por diversos fatores que levam a presença de um CL funcional no dia do diagnóstico precoce, como- ovulação tardia ao protocolo de IATF e ciclo estral mais longo (>22 dias) de alguns animais. Entretanto, grande parte destes resultados falso-positivos observados com a ultrassonografia Doppler pode ser oriunda de perdas embrionárias entre o diagnóstico precoce (Dias 20-22) até o diagnóstico convencional (Dia 30), visto

que estes estudos usaram o diagnóstico no Dia 30 para comparar a acurácia da técnica ultrassonográfica precoce.

Desta forma, observa-se que estes 8-10 dias de intervalo entre as técnicas pode representar grandes perdas embrionárias que irão ocorrer neste período (DISKIN *et al.*, 2008), e assim ter vacas gestantes no diagnóstico precoce mas que perderam a gestação até o Dia 30. Esta morte embrionária precoce também pode refletir a maior proporção de resultados falso-positivos (FRICKE *et al.*, 1998 *apud* PUGLIESI *et al.*, 2017).

4.2.2 Aplicações em programas reprodutivos para bovinos

Frente ao potencial de avaliação da funcionalidade do CL ao longo do ciclo estral, algumas técnicas foram desenvolvidas para inserir a ultrassonografia Doppler em programas de IATF. Para estes fins, o equipamento ultrassonográfico deve ser adequadamente configurado para o modelo escolhido e para identificação da perfusão sanguínea em vasos pequenos e com baixo fluxo sanguíneo. Isso é fundamental visto que a quantidade de sinais coloridos no visor é altamente influenciada pelo tipo de configuração utilizada, como a frequência, potência usada, outros.

De forma geral, sugere-se uma configuração no equipamento que permita uma velocidade de detecção mínima ao redor de 4-6cm/seg (GINTHER, 2007). Em relação ao custo dos equipamentos, este vem reduzindo nos últimos anos; entretanto, o custo ainda se situa ao redor de 3 vezes maior ao de um equipamento em modo B. Empresas especializadas em assistência à programas de IATF em diversas regiões do território brasileiro já tem viabilizado equipamentos para uso comercial.

4.2.2.1 Uso em programas de ressincronização precoce da ovulação pós-IATF

A possibilidade de diagnosticar com alta acurácia (90-95%) as vacas não-gestantes entre 20 e 22 dias pós-inseminação permitiu que novas estratégias fossem desenvolvidas para se obter um intervalo de inseminação menor dentro da estação reprodutiva. Dentre as estratégias, se destaca a possibilidade de

realizar uma segunda inseminação em um intervalo de apenas 24 dias após a primeira IATF.

Isto promove uma antecipação de 16 dias no intervalo para segunda IATF se comparado ao sistema tradicional que só ressincroniza as fêmeas detectadas não-gestantes aos 30 dias pós-IATF, ou uma antecipação de 8 dias se comparado ao sistema precoce que ressincroniza todas as vacas aos 22 dias e faz o diagnóstico de gestação convencional aos 30 dias. Entretanto, realizar tal programa só é possível com o diagnóstico precoce da gestação pela ultrassonografia Doppler aos 22 dias e com uma ressincronização da ovulação também precoce a partir dos 14 dias da primeira IATF (Gráfico 6) (PUGLIESI *et al.*, 2017).

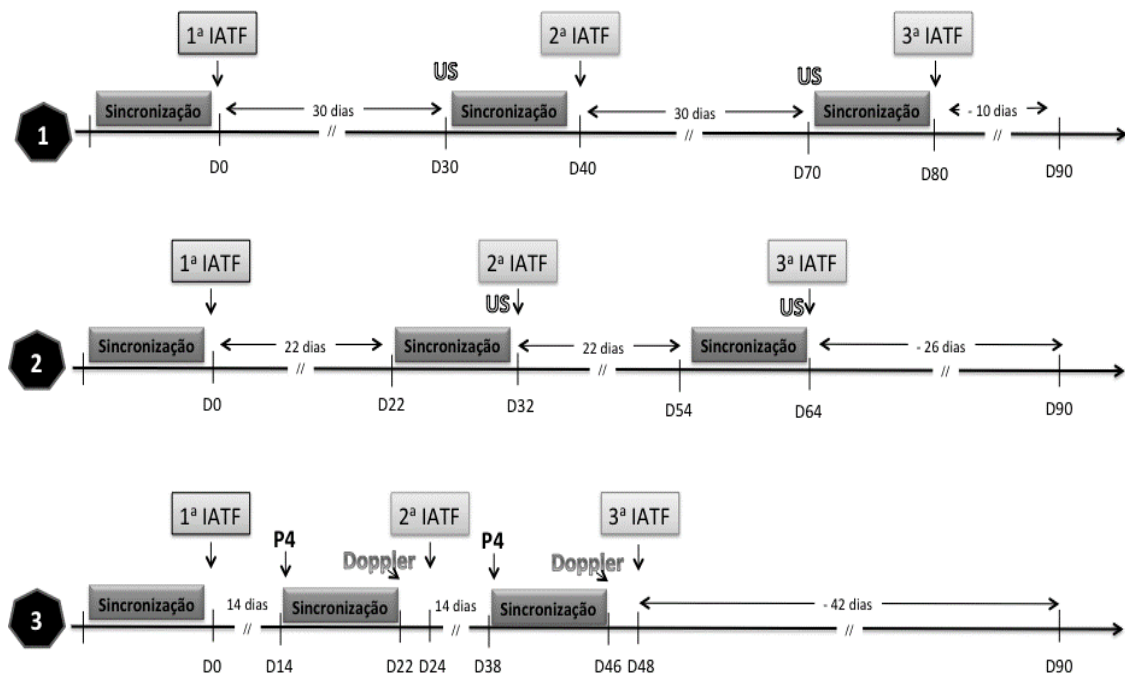


Gráfico 6 - Ilustração da ressincronização convencional (1), precoce (2) e superprecoce (3).
Fonte- Departamento de Reprodução Animal, Pietro Baruselli, 2014.

Nesse sentido, Vieira *et al.* (2014) verificaram que a aplicação de 1,5 mg de benzoato de estradiol no início do protocolo de ressincronização (Gráfico 7) (13 a 14 dias após prévia IATF) induziu luteólise e reduziu a taxa de concepção da primeira inseminação, fato que não ocorre em vacas ressincronizadas 22 dias após a IATF (SÁ FILHO *et al.*, 2014).

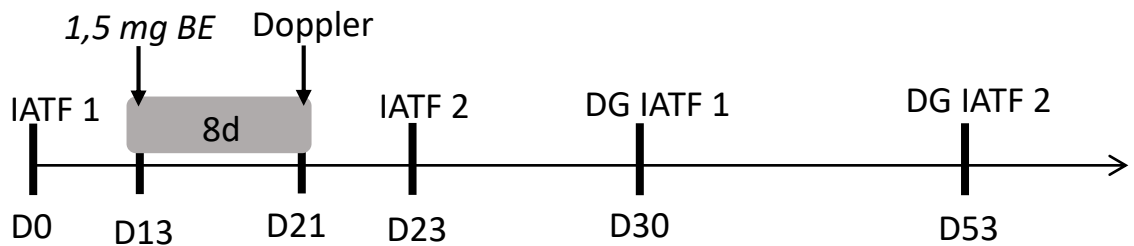
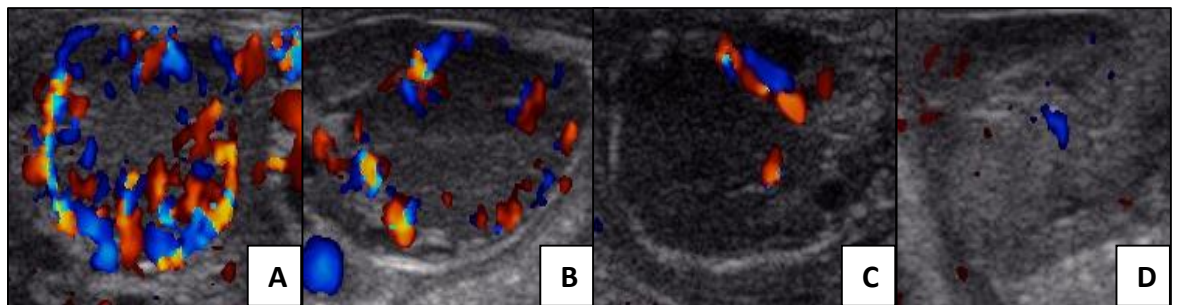


Gráfico 7 - Delineamento do primeiro trabalho com resincronização superprecoce.
Fonte- Departamento de Reprodução Animal, Vieira *et al.* (2014).

As imagens obtidas durante os trabalhos de Vieira *et al.*, 2014 demonstram claramente a regressão lútea (Quadro 33). Diante desse limitante, programas de resincronização superprecoce passaram a ser desenvolvidos sem o uso de estradiol no início do tratamento.



Quadro 33 - CL nos dias 13 (A), 15 (B), 17 (C) e 21 (D).
Fonte- Departamento de Reprodução Animal, Vieira *et al.* (2014).

Estes protocolos hormonais para resincronização se baseiam no uso de uma alta dose de P4 injetável no momento da inserção de dispositivo de P4 (14 após a IATF) para induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular. Rezende *et al.* (2016) verificaram que o início da nova onda de crescimento folicular ocorre no dia $3,0 \pm 0,7$ dias após o tratamento com 100 mg de P4 (Afisterone®, Hertape Calier) em vacas Nelore.

Com o objetivo de reduzir o custo fixo da P4 em protocolos de resincronização superprecoce foi avaliada a eficácia do uso de P4 de longa ação P4 LA (Sincrogest injetável®, Ouro Fino Saúde Animal), para sincronização da onda de crescimento folicular no protocolo de resincronização superprecoce (Rezende *et al.*, 2017, dados não publicados).

Para tal estudo foram utilizadas 88 vacas Nelore, previamente inseminadas em tempo fixo, distribuídas em 4 grupos experimentais, alterando apenas o tipo e dose de P4 injetável no dia 14. As vacas que receberam

ressincronização superprecoce foram tratadas 14 dias após IATF (D14) com dispositivo de P4 associado a dose e tipo de P4 i.m. de cada grupo- Grupo P4I-100 (n=22) - 100mg de P4 injetável CA (Afisterone®); Grupo P4I 50mg (n=22) - 50mg de P4 injetável CA (Afisterone®); Grupo P4 LA 100mg (n=22) – 100mg de P4 LA (Sincrogest injetável®, Ouro Fino Saúde Animal); Grupo P4 LA 50mg (n=22) – 50mg de P4 LA (Sincrogest injetável®) (PUGLIESI *et al.*, 2017).

No dia 22 foi realizada remoção do dispositivo de P4 e administração de 0,530 mg de cloprostenol sódico, 1 mg de CE e 300 UI de eCG i.m., e IATF 48 horas após (D24). Não foi observada diferença entre os grupos experimentais para diâmetro do folículo dominante nos dias 22 e 24.

Este estudo indica que há possibilidade de substituição do tipo de P4 injetável no início do protocolo de ressincronização superprecoce, porém mais estudos devem ser realizados. Diante do exposto, é possível afirmar que os resultados obtidos com o modelo de ressincronização superprecoce são de possível aplicação em maior escala (PUGLIESI, *et al.*, 2017).

A considerável redução no tempo da estação de monta proporciona mais dias de ganho de peso aos bezerros que nascem mais cedo, principalmente quando comparado a ressincronização após o diagnóstico gestacional convencional, ou mesmo o uso de uma IATF seguida de repasse com touro.

Um fato importante a se considerar é o aumento dos custos relacionados a mão de obra especializada, alto investimento com o equipamento de ultrassonografia com tecnologia Color Doppler, e custo da P4 injetável para a sincronização da nova onda folicular.

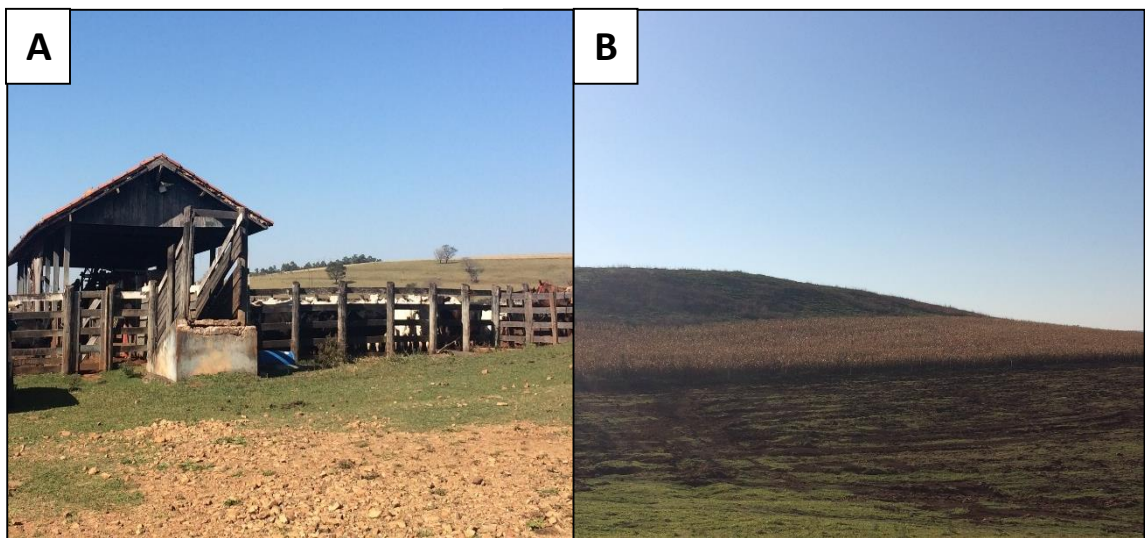
A escolha de qual modelo de ressincronização utilizar depende do sistema de produção, do manejo de pastos e lotes na fazenda, da disponibilidade de mão de obra do médico veterinário para realização do diagnóstico de gestação, visto que alguns manejos irão cair em datas e horários não comerciais, fator que pode ser limitante em determinadas propriedades.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Local e Grupos Experimentais

O presente trabalho foi desenvolvido em duas propriedades rurais, assessorado pela empresa de Tecnologia para a Pecuária, Firmasa® em parceria com a Universidade de São Paulo. Tais locais foram, Fazenda Empyreo, localizada no município de Jacarezinho - PR, licenciada para criação de bovinos de corte (CNAE 0151201) e a Fazenda Rancho Ouro Fino, com mesma atividade econômica, localizada no município de Astorga - PR; ambas localizadas na região norte do Estado do Paraná, Brasil.

A Fazenda Empyreo (Quadro 34 A), Retiro 1, possui 648 alqueires, sendo 32 alqueires dispostos para produção de milho e fabricação de silagem para consumo interno (Quadro 31 B).



Quadro 34 - Curral para manejo da Fazenda Empyreo (A). Produção de milho para silagem (B).

Fonte- Acervo do Autor, Astorga, Paraná (2017)

Os animais possuem dieta composta por pasto, *Brachiaria brizantha*, e sal mineral específico para as categorias animais. As vacas paridas recebem sal Matsuda-Fós Reprodução (Matsuda®), e as solteiras, sal proteinado Campo Fós Premium (Pró-Campo®) com 15% de ureia, da mesma marca (Quando 35 A). Em geral o peso médio dos animais é de 375 Kg, variando entre 430 Kg nas multíparas até 320 Kg nas primíparas (Quadro 35 B).



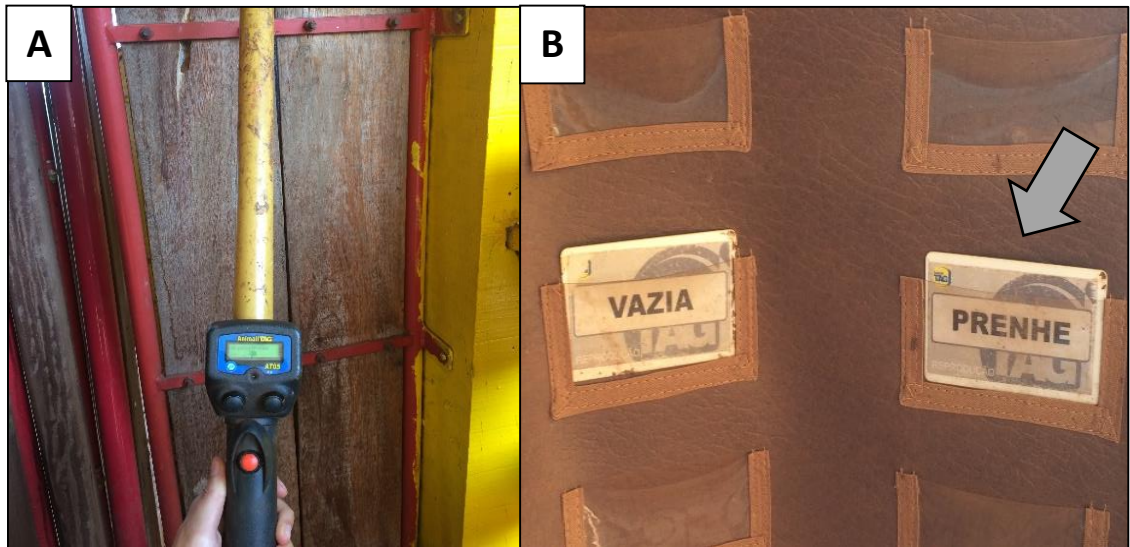
Quadro 35 - Sal para as vacas paridas da propriedade (A). Animais experimentais (B).
Fonte- Imagens cedidas por Leandro Souza (Revista DBO), Jacarezinho, Paraná (2017)

A Fazenda Rancho Ouro Fino (Quadro 36 A) apresenta extensão de 352,62 alqueires, sendo 28 alqueires para produção de soja, 12 para produção de milho e 8 para produção de cana de açúcar. A reserva legal constitui cerca de 91,70 alqueires. A dieta dos animais é baseada em pasto; variedades de *Cynodon* (Capim-estrela) e *Brachiaria brizantha* (BRS Piatã), núcleo proteico Tortuga® e cana), Sal 20 (Tortuga®) e silagem de milho. O peso médio dos animais é de 380 Kg (Quadro 36 B).



Quadro 36 - Curral para manejo da Fazenda Rancho Ouro Fino (A). Animais experimentais (B).
Fonte- Acervo do Autor, Astorga, Paraná (2017)

A fazenda dispõe de um sistema operacional para atualização de dados dos animais, de forma que o técnico responsável utiliza um bastão eletrônico para realizar a leitura do *chip* auricular dos animais (Quadro 37 A), e durante o manejo de diagnóstico de gestação, esse mesmo bastão lê o código presente nos cartões que indicam se a vaca está vazia ou prenhe (Quadro 37 B).



Quadro 37 - Bastão de leitura para conferência dos animais no sistema (A). Cartões (seta) indicadores (B).

Fonte- Acervo do Autor, Astorga, Paraná (2017)

O delineamento proposto constituiu avaliar a ressinchronização superprecoce (14 dias), com EM composta por três inseminações (duas ressinchronizações) em 48 dias; avaliando a taxa de prenhez acumulada no protocolo e testando diferentes dosagens de P4 injetável de curta ação (Afisterone®), associados à utilização de implantes com P4 intravaginais de primeiro e segundo uso (Gráfico 8).

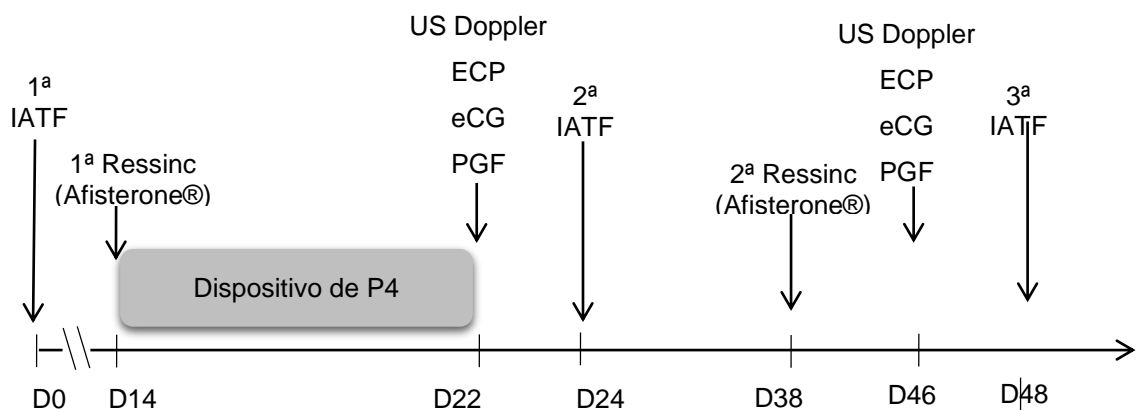


Gráfico 8 - Delineamento experimental, totalizando uma EM com 48 dias.

Fonte- Adaptado de Rezende (2016).

Para tal, três grupos experimentais foram randomizados, nas dosagens 0 mg (Grupo Controle), 50 mg (Grupo 5 mL) e 100 mg (Grupo 10 mL). O Grupo Controle não recebeu aplicação de nenhuma solução, passando somente pelo tronco de contenção no dia da aplicação aos demais grupos. Os detalhes do delineamento estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3- Delineamento executado no experimento ‘Efeito da aplicação de P4i CA (Afisterone®) em diferentes dosagens na taxa de prenhez em vacas de corte submetidas a ressinchronização superprecoce’. *Grupos não randomizados durante o experimento. Dados serão utilizados apenas para Taxa de Prenhez acumulada.

Manejo e Propriedade	Total	Número de Animais			Protocolo	Raça		Condição Animal		
		Grupo Controle	Grupo 5 mL	Grupo 10 mL		Implante	Nelore	Cruza da	Nulípara/Primípara/Multípara	ECC (<3)
IATF (Fazenda Emyreo)	489	Não se aplica			1º Uso	411	78	27/ 66/ 396	158	331
1ª Ressinc.	236	64	85	87	1º Uso	202	34	8/ 42/ 186	103	133
2ª Ressinc.	126*	-	-	126*	1º Uso	106	20	7/ 13/ 106	40	86
IATF (Rancho Ouro Fino)	254	Não se aplica			1º Uso	232	22	37/ 14/ 203	66	188
	119				2º Uso	119	0	0/ 21/ 98	23	96
1ª Ressinc.	120	43	39	38	1º Uso	112	8	16/ 6/ 98	39	81
	70	20	26	24	2º Uso	70	0	0/ 14/ 56	21	49
2ª Ressinc.	78	25	26	27	1º Uso	74	4	9/ 4/ 65	28	50
	-	-	-	-	2º Uso	-	-	-	-	-
IATF (Todas as fazendas)	743	Não se aplica			1º Uso	643	100	64/ 80/ 599	224	519
	119				2º Uso	119	0	0/ 21/ 98	23	96
1ª Ressinc.	356	107	124	125	1º Uso	314	42	24/ 48/ 284	142	214
	70	20	26	24	2º Uso	70	0	0/ 14/ 56	21	49
2ª Ressinc.	204*	25	26	153	1º Uso	180	24	16/ 17/ 171	68	136

Fonte- Levantamento de dados – Pesquisa de Campo.

Foram dispostos, entre as duas propriedades, 862 animais, sendo 762 da raça Nelore e 100 de cruzamento industrial (½ Angus). 743 animais receberam implante com P4 intravaginal de primeiro uso e, 119 animais receberam de segundo uso. Os animais apresentaram diferentes categorias, sendo 64 nulíparas, 101 primíparas e 697 multíparas. O ECC variou entre 2,5 à 4,0 (de 1 a 5), com predominância de 615 animais com escore acima ou igual à 3 e apenas 247 com condição corporal inferior à 3.

Para sincronização da ovulação, as vacas, em ambas propriedades, receberam um dispositivo intravaginal de P4 (Fertilcare 1200®; Vallé, Montes Claros, MG) e uma injeção i.m de Benzoato de estradiol (2 mL Fertilcare Sincronização®, Vallé, Montes Claros, MG) no dia -10 (Dia 0 da IATF).

No dia -2, os dispositivos foram retirados e foram injetados por via i.m., cipionato de estradiol (2 mL Ferticare Ovulação®, Vallé, Montes Claros, MG), eCG (300 UI ou 1,5 mL Folligon®, MSD, São Paulo) e cloprostenol sódico (1,0 mL Ciosin®, MSD, São Paulo). No dia 0 as vacas foram inseminadas em tempo fixo.

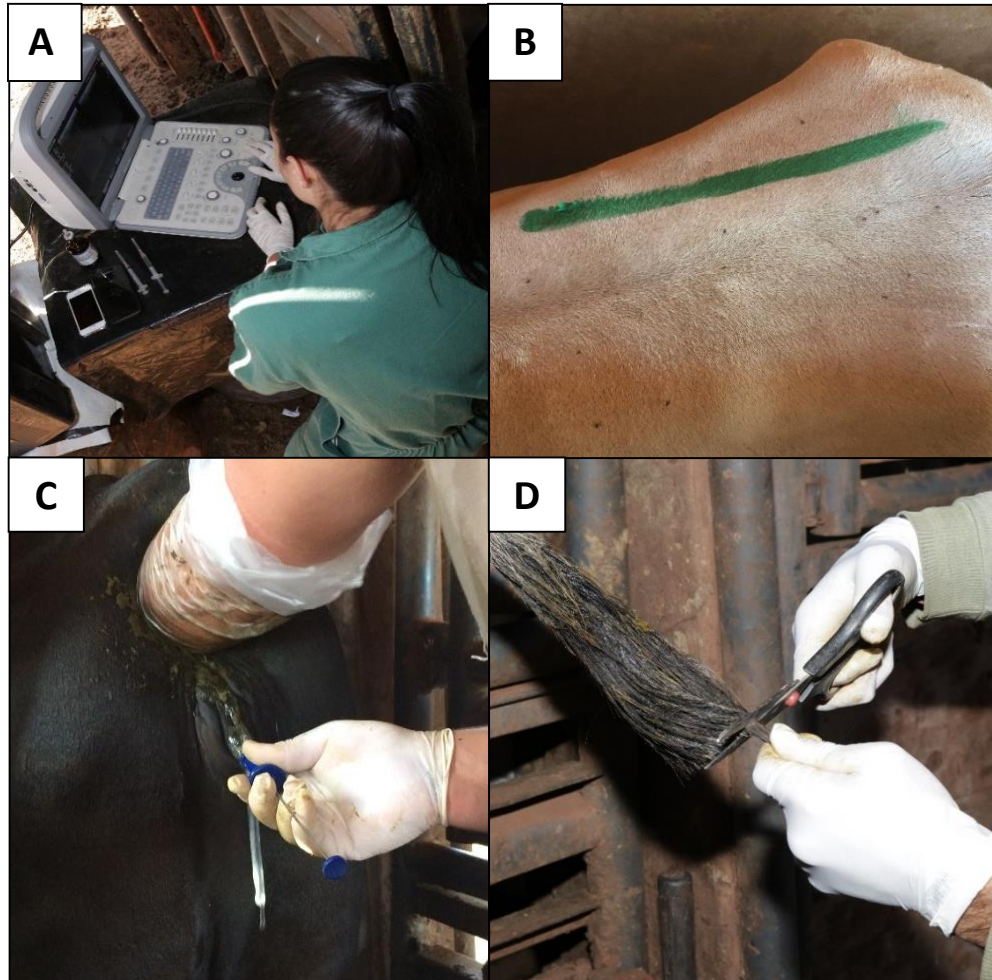
No D14 os grupos experimentais receberam a dose proposta de P4 injetável de curta ação (Afisterone®) e novamente implantes intravaginais (Quadro 38); na Fazenda Emyreio apenas de primeiro uso e na Fazenda Rancho Ouro Fino um lote recebeu primeiro e outro segundo uso, conforme Tabela 2, pág. 59.



Quadro 38 - P4 injetável utilizada no experimento (A). Condução dos animais D14 (B).
Fonte- Imagens cedidas por Leandro Souza (Revista DBO), Jacarezinho, Paraná (2017)

No D22 foi realizado o diagnóstico de gestação pela funcionalidade do CL através da ultrassonografia Color Doppler conforme estabelecido por Pugliesi *et al.* (2014) (Quadro 39 A) e o diâmetro do folículo pré-ovulatório das vacas 'vazias' foram mensurados por ultrassonografia transretal.

As vacas consideradas não-gestantes no diagnóstico precoce seguiram no protocolo para IATF [remoção do dispositivo de P4 e administração de 0,530 mg de cloprostenol sódico (PGF), 1 mg de CE e 300 UI de eCG i.m.; marcação da fêmea com bastão colorido (Quadro 39 B); IATF 48 horas após (D 24)] (Quadro 39 C). As vacas gestantes passaram por remoção do dispositivo de P4 sem tratamento adicional e receberam corte na cauda (Quadro 39 D).



Quadro 39 - Diagnóstico de funcionalidade do CL (A). Vaca com marcação por bastão (B). Inseminação artificial em tempo fixo (C). Corte da cauda de animais prenhes pelo diagnóstico superprecoce (D).

Fonte- Imagens cedidas por Leandro Souza (Revista DBO), Jacarezinho, Paraná (2017)

4.3.2 Avaliações ultrassonográficas do aparelho reprodutor

Os exames ultrassonográficos foram realizados por via transretal, através de um aparelho *SonoScape®* (S8), com transdutor linear multifrequencial, na frequência de 7,2 MHz (Quadro 40 A). Foram realizadas observações de todas as estruturas que compõem a parte interna do aparelho reprodutor feminino.

As avaliações ovarianas consistiram na mensuração do diâmetro máximo do primeiro e segundo maior folículo em ambos ovários. As avaliações luteais foram realizadas segundo a metodologia proposta por Ginther *et al.* (1989), presença ou ausência de CL e secção transversal do CL. A classificação da vascularização do CL seguiu a proposta de Pugliesi *et al.*, (2017).

A análise uterina foi baseada no maior diâmetro do corpo uterino e na presença ou ausência de líquido. Todos os dados foram anotados diretamente no computador e armazenados em planilhas, para posterior análise estatística (Quadro 40 B).



Quadro 40 - Ultrassom SonoScape® (S8), com tela *dual* para avaliação do CL (A). Anotações dos manejos diretamente no computador (B).

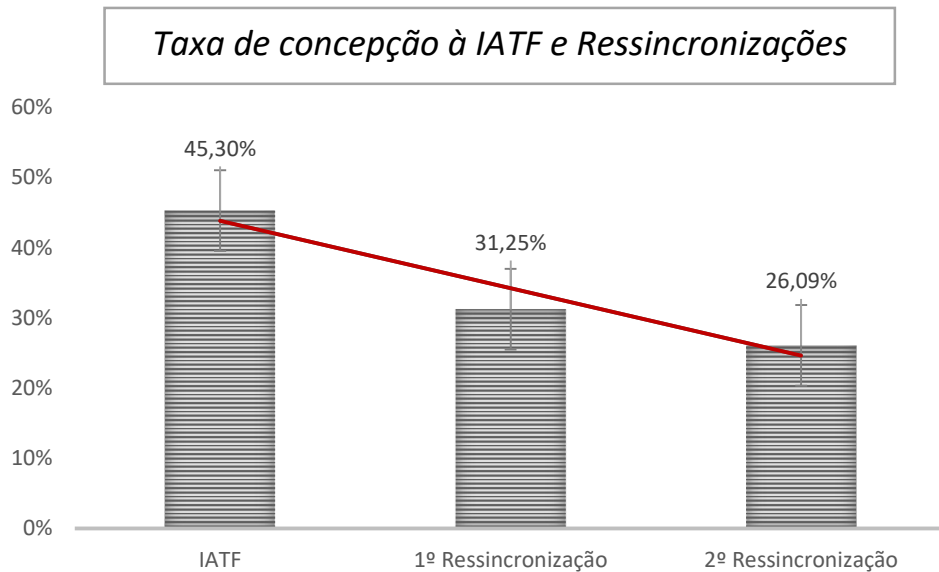
Fonte- Imagens cedidas por Leandro Souza (Revista DBO), Jacarezinho, Paraná (2017)

4.3.3 Análise estatística

Serão apresentados, preliminarmente, os resultados da primeira IATF e primeira resincronização (implante vaginal de primeiro uso) de 743 animais. Serão considerados, de forma descritiva, efeitos de ECC, tamanho do folículo e tratamento. Dados estatísticos serão obtidos após a finalização do experimento, através de análise de correlação e regressão, entre manejo, tratamento, categoria animal, raça, uso do implante e outros, com base no programa PROC GLIMIX do SAS 9.3

4.4 RESULTADOS PRELIMINARES E DISCUSSÃO

Podemos observar que a taxa de concepção na primeira IATF, dos lotes de ambas propriedades, foram inferiores à taxa média do rebanho brasileiro (Gráfico 9), que segundo os dados de Baruselli *et al.*, (2004), ficam em torno de 50%.



. **Gráfico 9** - Representação da taxa de concepção das propriedades, por manejo.
Fonte- Levantamento de dados USP.

Apesar destas amostras estarem localizadas em diferentes propriedades, as proporções são equivalentes a rebanhos equilibrados em termos de número de animais. Devido ao fato de se buscar uma renovação do plantel em torno de 5 anos, 15-20% das fêmeas submetidas à reprodução devem ser substituídas anualmente por novilhas (CANELLAS, 2010).

São muitos os fatores que dificultam as fêmeas se tornarem gestantes mais rapidamente, dentre eles podemos citar principalmente o anestro pós-parto (YAVAS; WALTON, 2000), variação de condição corporal pós-parto (AYRES *et al.*, 2009, 2014), falha na correta detecção de estro/cio (ROELOFS *et al.*, 2010), aspectos sanitários (AONO *et al.*, 2013; PEREIRA *et al.*, 2013), qualidade do sêmen utilizado, fertilidade individual de diferentes touros (OLIVEIRA *et al.*, 2012), categoria e diferentes estratégias utilizadas na estação de monta (SÁ FILHO *et al.*, 2013).

Até o momento, não foram levantados dados de prenhez por categoria animal. Mas sabe-se que melhores taxas, geralmente, são alcançadas por

multíparas e nulíparas (GRILLO *et al.*, 2014, NOGUEIRA *et al.*, 2014; SOUSA *et al.*, 2014; BATISTA *et al.*, 2012) e os índices podem afetar o resultado do rebanho pela resposta reprodutiva de primíparas, que geralmente são baixas (BATISTA, ABREU, 2010; GRILLO *et al.*, 2014; OLIVEIRA; BONATO, SANTOS, 2011).

Uma vez que vacas de primeira cria enfrentam diversas condições de estresse, o manejo deve ser tratado de forma cautelosa e planejada (OLIVEIRA; BONATO, SANTOS, 2011). Diferente das primíparas, a categoria de múltiparas não necessita de demanda energética para o crescimento, uma vez que são adultas. Entretanto, ainda se deparam com os efeitos negativos da presença do bezerro e o desgaste da lactação e reprodução.

Analisando a taxa de concepção das propriedades, individualmente, em relação aos grupos experimentais, podemos observar diferentes respostas diante da aplicação da P4 injetável (Afisterone®) na primeira ressincronização (Gráfico 10). Em ambas as fazendas, o Grupo Controle (0 mg) de P4i apresentou maiores taxas, seguido pelo Grupo 5 mL (50 mg) e por fim, com menos prenhez, os animais do Grupo 10 mL, que foram submetidos à dose de 100 mg do medicamento.

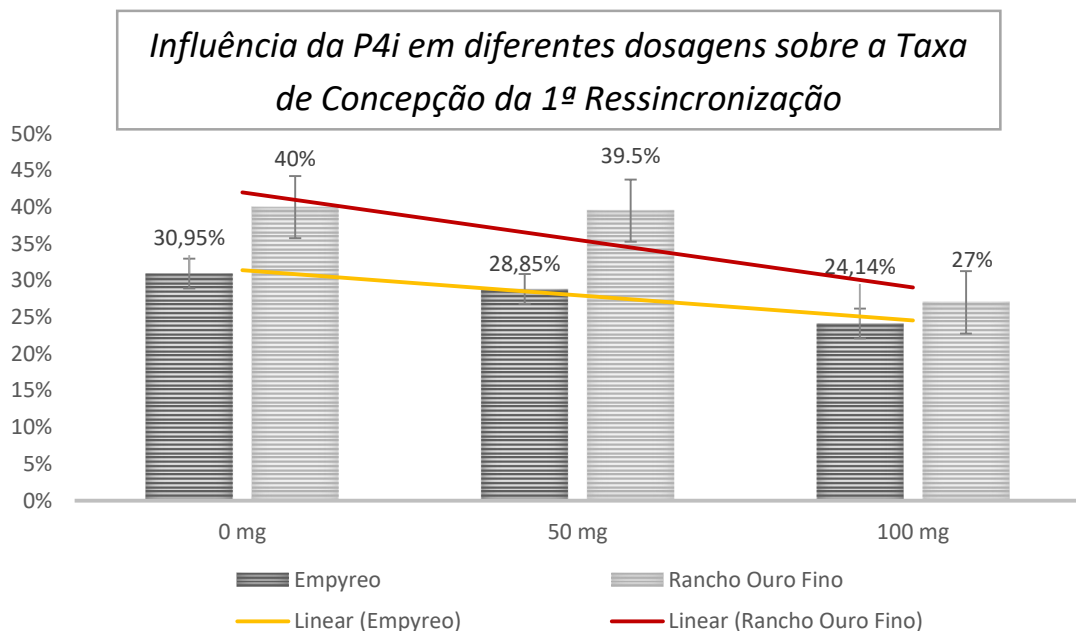


Gráfico 10 - Representação de concepções com base no grupo experimental, por propriedade. Fonte- Levantamento de dados USP.

Tais resultados indagam a possibilidade de que haja um bloqueio pela alta

concentração de P4 no protocolo do Grupo 10 mL (100 mg), face que todos os animais receberam dispositivo intravaginal de P4 de primeiro uso, com 1,2g de progesterona. A inibição pode ocorrer por meio do bloqueio da secreção do hormônio GnRH no hipotálamo, que inibe o LH e conseqüentemente a ovulação, prejudicando a taxa de prenhez final.

Altas concentrações de progesterona podem prejudicar o desenvolvimento folicular de novilhas, por exemplo, diminuindo a qualidade do oócito e prejudicando a IATF, que utiliza implante de P4, em animais cíclicos (BÓ *et al.*, 2002; PEGORER, 2009; SILVA, GOTTSCHALL, 2014).

De acordo com o trabalho de Viziak *et al.* (2017), objetivou-se avaliar a taxa de prenhez de vacas Nelore (*Bos indicus*), submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação utilizando dispositivo intravaginal de liberação de progesterona (P4; FertilCare®1200 com 1,2g de P4, Vallée, Brasil), novos ou previamente utilizados por oito dias, submetidas à IATF 48 ou 54 horas após a retirada do dispositivo.

Para tanto, foram utilizadas 1.034 vacas Nelore distribuídas homogeneamente em quatro grupos experimentais: Grupo Novo-IATF 48 (Dispositivo FertilCare1200® novo com IATF 48 horas; n=258); Grupo Novo-IATF 54 (Dispositivo FertilCare1200® novo com IATF 54 horas; n=253); Grupo Usado-IATF 48 (Dispositivo FertilCare1200® previamente usado por 8 dias com IATF 48 horas; n=277) e Grupo Usado-IATF 54 (Dispositivo FertilCare1200® previamente usado por 8 dias com IATF 54 horas; n=256).

Para vacas, tratadas com dispositivos novos, a taxa de prenhez foi semelhante quando a IATF foi realizada 48 ou 54 horas após a retirada do dispositivo [Novo-IATF 48ab=44,6% (115/258) vs. Novo-IATF 54a=52,7% (128/243)]. Entretanto, para os dispositivos usados, a taxa de prenhez foi menor quando a IATF foi realizada 54 horas após a retirada do dispositivo [Usado-IATF 54b=39,1% (100/256) vs. Usado-IATF 48a=50,5% (140/277); P=0,004].

Entende-se que para o dispositivo novo a IATF pode ser realizada 48 ou 54 horas após a retirada do dispositivo, entretanto, para o dispositivo usado a IATF deve ser realizada 48 horas da remoção do dispositivo. Em tal trabalho, pode ser observado que ao utilizar o implante intravaginal novo a inseminação pode ser realizada após as 48 horas convencionais.

Trazendo essa realidade para o experimento, a concentração de P4

permanece realmente elevada e pode levar a formação de um folículo anovulatório (fase antral), durante a primeira onda folicular, devido à baixa pulsatilidade de LH secundária aos elevados níveis séricos de P4 (FORTUNE, 2004).

Outro fator que pode influenciar os resultados de um programa reprodutivo é o estado nutricional da vaca parida, que devido ao balanço energético negativo (BEN), tende ao baixo consumo, e diminui o nível sanguíneo de glicose, insulina e IGF-I que, juntamente, restringem a produção de estrógeno pelo folículo dominante, inibindo assim, a liberação pulsátil de GnRH e LH (BUTLER, 2000) necessários para o crescimento final folicular e ovulação.

Múltiparas representam grande dependência aos fatores ambientais em que são submetidas (BATISTA, ABREU, 2010). Assim, a avaliação do ECC dos animais e domínio técnico do responsável de cada propriedade é fundamental na escolha do protocolo IATF e planejamento geral (SILVA, GOTTSCHALL, 2014).

A falta de alguns dados ainda dificulta a real comparação das taxas de prenhez. Porém, a partir de uma análise acerca do escore corporal dos animais, nota-se o melhor desempenho de fêmeas que encontravam-se com ECC maior ou igual a 3, numa escala de 1 a 5, do que as fêmeas com escore inferior a 3, que obtiveram índices inferiores (Gráfico 11).

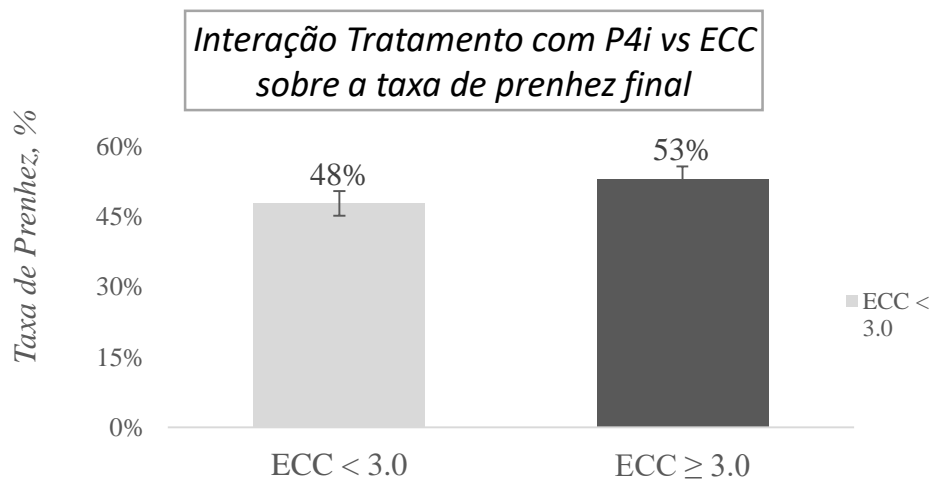


Gráfico 11 - Relação de prenhez por ECC, manejo de IATF e primeira ressinchronização.
Fonte- Levantamento de dados USP.

Segundo Sá Filho *et al.* (2010, 2011), animais que possuem folículos de maior diâmetro na IATF apresentam melhores taxas de estro, ovulação e

concepção quando comparados com animais com folículos de menor diâmetro. No presente experimento, animais com diâmetro folicular entre 10-12mm apresentaram melhores resultados em prenhez do que animais com folículos acima de 12mm (Gráfico 12).

Tal fato pode ser explicado pela presença de vacas com cios muito curtos (<18 dias) ou prolongados (>22 dias), podendo ter como causa uma função luteínica subnormal (MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE, B. V. E.; PINO, C. S., 2003), podendo influenciar negativamente nos índices de prenhez. Se a concentração de P4, por sua vez, não exercer um bloqueio completo, alguns folículos podem ser persistentes, podendo levar a uma baixa taxa de fertilidade, por conterem oócitos envelhecidos.

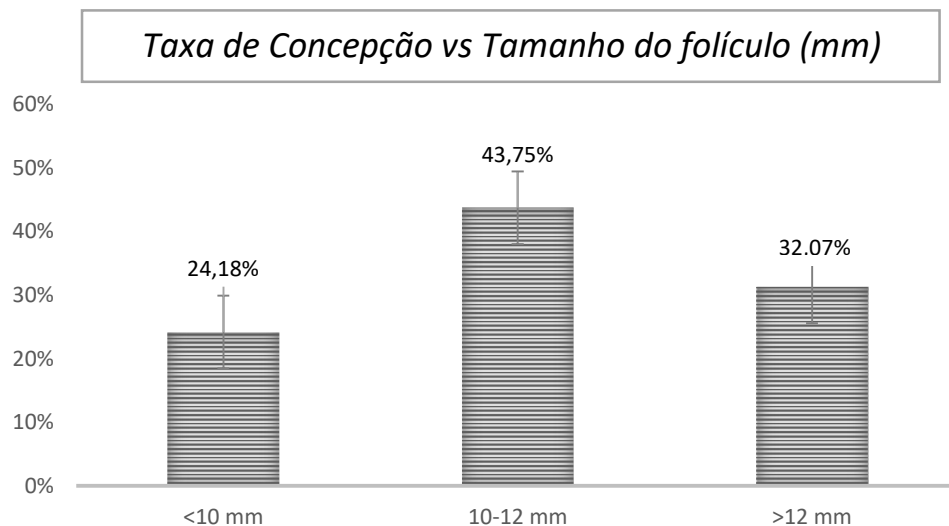


Gráfico 12 - Relação de prenhez com base no tamanho do folículo no D22 (Doppler) do manejo anterior.

Fonte- Levantamento de dados USP.

Outros experimentos conduzidos com a ressincronização D14, pela equipe do Laboratório de Dosagens Hormonais, coordenada pelo Professor Pietro Baruselli, obtiveram taxas satisfatórias. Um delineamento (100 mg de P4i) com duas IATF's a cada 24 dias (EM de 48 dias), conduzido pela mesma empresa do delineamento descrito previamente, obtiveram resultados de prenhez de 49% (221/448) na primeira IATF, 51% (115/226) na primeira ressincronização e 75% de prenhez acumulada (337/448).

Colli *et al.* (dados não publicados) avaliaram a eficiência da ressincronização superprecoce em novilhas Nelore de 12 a 16 meses, e obtiveram taxa de prenhez a IATF de 43% (270/631), 34% (107/314) na primeira

ressincronização, 34% (59/172) na segunda ressincronização, e 69% (436/631) de prenhez acumulada em 3 IATF's, em 48 dias de estação de monta.

Em outro trabalho de Colli *et al.* (2017), os autores avaliaram a eficiência reprodutiva de vacas Nelore lactantes submetidas à ressincronização com início 14 dias após prévia IATF (2 IATF's em 24 dias). Os resultados obtidos na primeira IATF foram de 59,3% (121/204), 43,9% (36/82) na ressincronização e prenhez acumulada de 77,3% (157/203) (Gráfico 13).

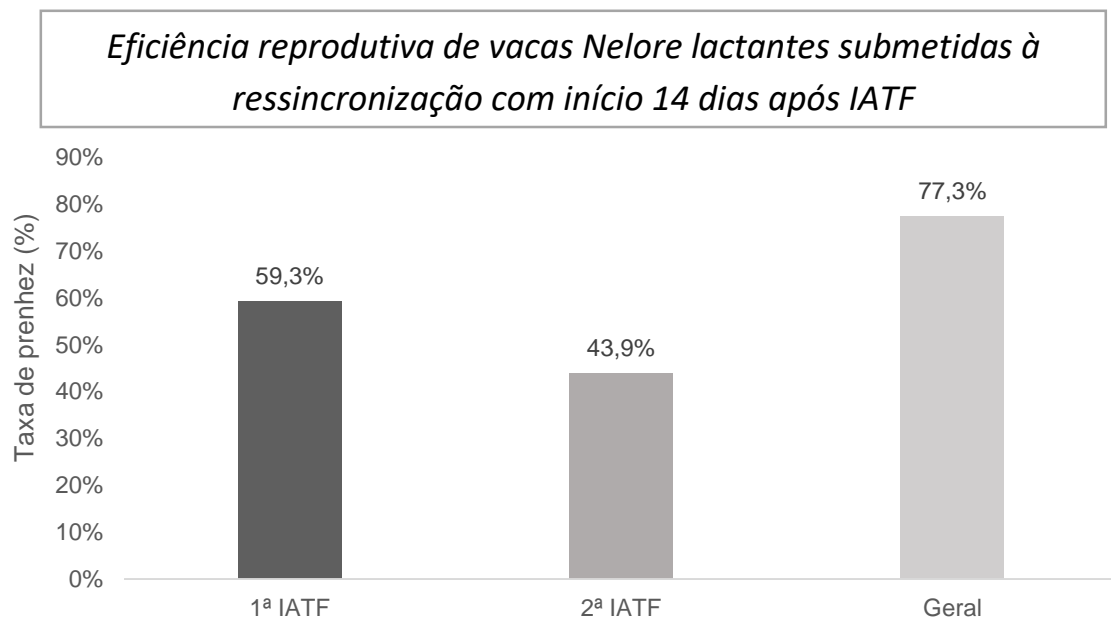


Gráfico 13 - Eficiência reprodutiva de vacas Nelore lactantes submetidas à ressincronização com início 14 dias após prévia IATF (2 IATF's em 24 dias).

Fonte- Colli *et al.*, 2017.

4.5 RENTABILIDADE DO SISTEMA

O custo da prenhez varia de acordo com a taxa de concepção, ou seja, quanto maiores os resultados, maior o retorno do investimento inicial e é importante ressaltar que a cada um ponto percentual (1%) a mais na taxa de concepção equivale a aproximadamente 10 bezerros a mais que serão desmamados (COLLI, 2015).

A rentabilidade do sistema está diretamente ligada com a taxa de concepção no programa e também com o peso à desmama dos bezerros, principal fonte de renda para pecuaristas do setor de cria. O uso de touros que

possuem alto índice de fertilidade e DEP de peso à desmama positiva, contribuem para aumento da rentabilidade do criador.

Dados acerca dos valores de um protocolo convencional (30 dias) e de um protocolo de ressincronização superprecoce (14 dias) serão apresentados na Tabela 4. Os preços foram considerados a partir da média de mercado, de acordo com o primeiro semestre de 2017. O protocolo convencional se baseou em dados de empresas do Tocantins e o protocolo Doppler em empresa do Paraná, que é uma atual prestadora do serviço.

Tabela 4 - Relação de valores de serviço (considerando 250 animais) entre protocolo de ressincronização convencional (30 dias) e protocolo de ressincronização Doppler (14 dias). **Para análise de soma serão considerados os dados em azul. Investimento US não contabilizado.*

PROTOCOLO CONVENCIONAL		PROTOCOLO DOPPLER	
MATERIAL/SERVIÇO	PREÇO (R\$)	MATERIAL/SERVIÇO	PREÇO (R\$)
*INVESTIMENTO US MODO B	12-20.000,00	*INVESTIMENTO US COLOR-DOPPLER	45.000,00
PROTOCOLO MONODOSE	26.00/vaca	PROTOCOLO MONODOSE	23.00/vaca
PROTOCOLO MULTIDOSE SEM P4i CA	22.00/vaca	PROTOCOLO MULTIDOSE	21.00/vaca
	-	P4 INJETÁVEL (AFISTERONE®)	12-12.5/vaca
QUILOMETRAGEM	1.20/vaca	QUILOMETRAGEM	3.00/vaca
SÊMEN/VACA	20.00/vaca	SÊMEN/VACA	20.00/vaca
DIÁRIA	3.75/vaca	DIÁRIA	7.50/vaca
TOTAL			
MONODOSE	~50.95/vaca*	MONODOSE	~65.50/vaca*
MULTIDOSE	~46.95/vaca	MULTIDOSE	~63.50/vaca

Fonte: Levantamento de dados – Pesquisa de campo.

É notável que o protocolo Doppler possui maior custo, porém com o crescente progresso no conhecimento e melhoria dessa tecnologia, alternativas estão surgindo para expandi-lo no mercado. Empresas como a Ouro Fino Saúde Animal, através da venda de grandes números de medicamentos, concede aos médicos veterinários, em modos consignados por exemplo, aparelhos com modo Doppler. Dessa forma é possível adquirir o aparelho e pagá-lo com a venda de um número determinado de medicamentos da empresa.

Propriedades com alto número de animais, investem na tecnologia, adquirindo o aparelho à propriedade, encerrando a EM mais cedo, prezando por bezerros que nasçam em épocas melhores e desmamem mais pesados, tornando o processo válido às mesmas. As empresas detentoras desses

produtos já têm reconhecido a necessidade de maior acessibilidade para pagamentos e benefícios.

Em geral, a IATF amplia o mercado de trabalho, pelo aumento de procedimentos. Cerca de 8,2 milhões de IATF's em rebanhos de corte representam; ganho de 8% de bezerros no fim da EM, ganho de 20 Kg de bezerro no desmame ao abate (pela antecipação do parto e ganho genético), ganho de 1 arroba do desmame ao abate (melhor época de nascimento e ganho genético dos bezerros), totalizando uma geração de valor de R\$ 1,5 bilhões de reais (BARUSELLI, 2016).

Os médicos veterinários faturam 30% do investimento direto de R\$ 567 milhões de reais. Cerca de R\$ 210 milhões para sêmen, R\$ 178,5 milhões para fármacos e R\$ 178,5 milhões para serviços veterinários (BARUSELLI, 2016). Com base nessas informações é possível acompanhar a necessidade dos serviços veterinários para a economia do país, bem como, compreender os obstáculos das propriedades; implementando biotecnologias (protocolos reprodutivos adequados aos objetivos e acessibilidade da fazenda), de forma a ampliar os ganhos desse mercado.

4.6 CONCLUSÕES

Atualmente existe tecnologia disponível para que se encurte o intervalo entre o parto e nova concepção, contribuindo para aumento na produção de bezerros em prazo mais curto e melhoramento genético do rebanho a longo prazo, garantindo quantidade e qualidade de bezerros e velocidade de produção.

O uso da ultrassonografia Color-Doppler é uma estratégia de grande potencial para diagnóstico precoce de gestação após a IATF.

A aplicabilidade do protocolo de ressincronização superprecoce (14 dias) se mostra eficaz, entretanto, se faz necessária uma padronização destes critérios para uma avaliação replicável pelos médicos veterinários.

Os dados apresentados neste trabalho são resultados preliminares de uma grande linha de pesquisa que se encontra em desenvolvimento. Até o presente momento, indaga-se que, a utilização de implantes de primeiro uso associados a dosagem de 100 mg de P4 injetável (Afisterone®), podem inibir uma nova onda folicular durante a ressincronização, por meio do bloqueio da

secreção do hormônio GnRH no hipotálamo e conseqüentemente de LH e a ovulação, prejudicando a taxa de prenhez dos manejos subsequentes; ou mesmo a possibilidade de folículos persistentes. A não necessidade de altos níveis de P4 pode ser uma alternativa benéfica para redução de custos do protocolo.

4.7 RECOMENDAÇÕES

Diante algumas adversidades observadas durante o acompanhamento do experimento, situações passíveis a qualquer outro local, tais como a mistura de animais não pertencentes ao lote, animais faltosos, óbito ou doença, qualidade do sêmen a ser utilizado, falhas de anotações de campo, assiduidade ao horário; atenta-se para a necessidade de extrema organização e comunicação durante o trabalho a ser desenvolvido, especialmente em área científica. Através mesmo das pequenas falhas, se torna possível raciocinar e aprimorar o sistema de produção, enriquecendo as atividades a serem desenvolvidas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Estágio Curricular Supervisionado realizado na Universidade de São Paulo foi extremamente importante para somar os conhecimentos prévios adquiridos na graduação em Medicina Veterinária, bem como agregar novos conceitos para o aperfeiçoamento profissional e pessoal, além de permitir a vivência do dia-a-dia das fazendas, sendo possível identificar a real necessidade e anseios do setor pecuário.

A assistência oferecida pelos professores desde as disciplinas base mostrou-se essencial para o desempenho das atividades. Pude observar a importância do conhecimento teórico como base profissional, pois uma conduta correta parte de uma linha de raciocínio rápido e lógico complementado pela estrutura disponível.

Acompanhar e fazer parte da rotina do Departamento de Reprodução Animal facilitou o desenvolvimento desse raciocínio diagnóstico e possíveis soluções de problemas, sendo uma experiência fundamental para a dinâmica da pesquisa e do mercado de trabalho.

Notei a importância de valorizar o *insight*, *networking*, conhecimentos econômicos, voltados não somente para a realização de programas reprodutivos, mas para a eficiência e qualidade de assistência veterinária prestada; para que a ciência seja aplicável no cotidiano das propriedades e que qualifique melhor os técnicos, de forma a tornar as atividades cada vez mais atraentes e produtivas.

Considero de extrema importância a experiência obtida durante a realização desse estágio, por ter contribuído no meu desenvolvimento crítico. Além disso, a possibilidade de ter acompanhado um projeto de pesquisa de tal porte, pioneiro na área, foi enriquecedor para o meu futuro profissional, onde levo como aprendizado, o trabalho em equipe, respeito às sugestões e limitações do próximo.

6 REFERÊNCIAS

- ABREU, L. A. **Efêmera identidade acadêmica**. Mar. 2017. Matéria concedida a Universidade Federal do Tocantins. *Jornal Veterinariando*.
- ACOSTA TJ, HAYASHI KG, MATSUI M, MIYAMOTO A. **Changes in follicular vascularity during the first follicular wave in lactating cows**. *J Reprod Dev*, v.51, p.273-280, 2005.
- ACOSTA, T. J.; HAYASHI, K.G.; OHTANI, M.; MIYAMOTO, A. **Local changes in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows**. *Reproduction*, v.125, p.759-767, 2003.
- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2004.
- AONO, F. H.; COOKE, R. F.; ALFIERI, A. A.; VASCONCELOS, J. L. M. **Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations**. *Theriogenology*, v. 79, p. 242–248, 2013.
- ASBIA, **Relatórios**. Disponível em: < <http://www.asbia.org.br/novo/relatorios/>>. Acesso em 18 nov. 207.
- AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; DE SOUZA TORRES-JÚNIOR, J. R.; DEMÉTRIO, C. G. B.; DE LIMA, C. G.; BARUSELLI, P. S. **Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (Bos indicus) cows**. *Livestock Science*, v. 123, n. 2-3, p. 175–179, 2009.
- AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; DEMÉTRIO, C. G. B.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; PENTEADO, L.; D'OCCHIO, M. J.; BARUSELLI, P. S. **Inferences of body energy reserves on conception rate of suckled Zebu beef cows subjected to timed artificial insemination followed by natural mating**. *Theriogenology*, v. 82, n. 4, p. 529–536, 2014.
- BALARO, M. F. A.; SANTOS, A. S.; MOURA, L. F. G. M.; FONSECA, J. F.; BRANDÃO, F. Z. **Luteal dynamic and functionality assessment in dairy goats by luteal blood flow, luteal biometry, and hormonal assay**. *Theriogenology*, v.95, p.118-126, 2017.
- BARBOSA, A. F. **Economia, Política Internacional, Nova Ordem Mundial**. Editora Contexto, 2002.
- BARBOSA, C. C.; SILVA, L. D. M. **Ultrassonografia Doppler para avaliação reprodutiva de fêmeas**. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.36, n.4, p.220-224, out./dez. 2012.
- BARUSELLI, P. S. **Como produzir bezerros em quantidade e com qualidade**. Disponível em:

<<http://aveworld.com.br/relatorio/62ef9f756b20884e7cfe42db8c917309.pdf>>. Acesso em 2 nov. 2017.

BARUSELLI, P. S. **IATF supera dez milhões de procedimentos e amplia o mercado de trabalho.** Disponível em: <https://altagenetics.com.br/Circulares/IATF%20supera%20dez%20milh%C3%B5es%20de%20procedimentos%20e%20amplia%20o%20mercado%20de%20trabalho.pdf>. Acesso em 19 out. 2017.

BARUSELLI, P.S.; BO, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. **Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte.** 1º Simposio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, Londrina, 2004.

BATISTA, D. S. N.; ABREU, U. G. P. **Alguns Aspectos da Eficiência Reprodutiva no Rebanho Nelore da Estação Experimental do Pantanal.** 5º Simpósio Sobre Recursos Naturais e Socioeconômicos do Pantanal. Corumbá – MS, 2010.

BÓ, G. A.; COLAZO, M. G.; MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. **Sincronización de la Emergencia de la Onda Folicular y la Ovulación en Animales Tratados Con Progestagenos y Diferentes Esteres de Estradiol.** Simpósio Internacional de Reprodução Animal. v. 2, p. 71-84. Argentina, 2012.

BOLLWEIN H, HEPPELMANN M, LÜTTGENAU J. **Ultrasonographic Doppler Use for Female Reproduction Management.** Vet Clin North Am Food Anim Pract, v.32, p.149-164, 2016.

BOLLWEIN, H., LÜTTGENAU, J., HERZOG, K. **Bovine luteal blood flow: basic mechanism and clinical relevance.** Reprod Fertil Dev, v.25, p.71-79, 2012.

BOLLWEIN, H.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. **Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during pregnancy.** Theriogenology, v.57, p.2053-2061, 2002.

BOLLWEIN, H.; MEYER, H. H. D.; MAIERL, J.; WEBER, F.; BAUMGARTNER, U.; STOLLA, R. **Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow in cows during the estrous cycle.** Theriogenology, v.53, p.1541-1552, 2000.

BONA, A. **Retorno sobre investimento.** Disponível em: <https://andrebona.com.br/retorno-sobre-investimento-roi-o-que-e-e-como-calcular/>. Acesso em 16 nov. 2017.

BUTLER, W. R. **Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle.** Animal Reproduction Science, v. 60-61, p. 449–457, 2000.

CANELLAS, L. C. **Avaliação Meta-Analítica de Sistemas de Recria de Novilhas de Corte para o Acasalamento aos 18 Meses.** Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. pp. 73. Porto Alegre – RS, 2010.

CARVALHO, C. F. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004. 365p.

CENTRAL BELA VISTA. Disponível em: <<http://www.centralbelavista.com.br/2017/Usamos.aspx#>>. Acesso em: 26 set. 2017.

CERRI, G. G; CARVALHO, C. F.; CHAMMAS, M. C. **Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia**. Ciência Rural, v.38, n.3, p.872-879, 2008

COLLI, M. H. A. **Relatório de Estágio Supervisionado**. Universidade Estadual de Londrina – PR, 2015.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; GARCIA-WINDER, M.; ZALESKY, D. D.; SCHANBACHER, B. D.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. **Endocrine mechanisms of puberty in heifers: estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion**. Biology of Reproduction, v. 31, p. 332–341, 1984.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; WOLFE, P. L.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. **Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion**. Biology of Reproduction, v. 37, n. 5, p. 1054–65, 1987.

DESCÔTEAUX L, CARRIÈRE PD, DUROCHER J. **Ultrasonography of the reproductive system of the cow: A 4 languages interactive CD-rom for continuing education of veterinarians**. Continuing education services of the University of Montreal, St-Hyacinthe, Québec, Canada. 2005.

DESCÔTEAUX, L.; GNEMMI, G.; COLLOTON, J. **Ultrasonography of the Bovine Female Genital Tract**. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, v. 25, n. 3, p. 733–752, 2009.

DI SALVO BOCCI, F.; ZELLI, R.; POLISCA, A. **Doppler evaluation of maternal and fetal vessels during normal gestation in the bitch**. Vet Sci, v.81, p.382-388, 2006.

DIEHL, N. F. **Ultrassonografia Doppler na reprodução de pequenos animais**. Botucatu, 2009. Disponível em: <http://200.145.6.238/bitstream/handle/11449/118884/diehl_nf_tcc_botfmvz.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 1 nov. 2017.

DISKIN, M. G.; MORRIS, D. G. **Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants**. Reprod Domest Anim, v.43 p.260-267, 2008.

ELIFF, F. **Relatório de Estágio Supervisionado**. Universidade Metropolitana de Santos – SP, 2016.

FAOSTAT. **Meat cattle**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL/visualize>>. Acesso em 21 nov. 2017.

FMVZ-USP. Disponível em: <http://www.fmvz.usp.br/historico>. Acesso em: 01 out. 2017.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; YANG, M.Y. **Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle.** *Animal reproduction*, 2004.

FRICKE, P. M.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK, M. C. **Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows.** *Theriogenology*, v.50, p.1275-1284, 1998. Apud: PUGLIESI, G; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T. K.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BINELLI, M. **Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos.** *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

GALVÃO, K. N.; SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L.; CHEBEL, R. C.; RUTIGLIANO, H. M.; BRUNO, R. G.; BICALHO, R. C. **Evaluation of methods of resynchronization for insemination in cows of unknown pregnancy status.** *Journal of Dairy Science*, v. 90, n. 9, p. 4240–4252, 2007.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography.** Book 4. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing, 258p, 2007.

GINTHER, O. J. **Ultrasonic imaging and reproductive event in the mare.** Cross Plains, WI, Equiservices, Inc. p.1-12, 1986.

GINTHER, O. J.; SHRESTHA, H. K.; BEG, M. A. **Circulating hormone concentrations within a pulse of a metabolite of prostaglandin F₂α during preluteolysis and early luteolysis in heifers.** *Anim Reprod Sci*, v.122, p.253-258, 2010.

GRILLO, G. F.; GUIMARÃES, A. L. L.; COUTO, S. R. B.; FIGUEIREDO, M. A.; PALHANO, H. B. **Comparação da Taxa de Prenhez entre Novilhas, Primíparas e Multíparas da Raça Nelore Submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo.** *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. v. 37, n. 3, p. 193-197. Rio de Janeiro, 2014.

HANZEN, C.; DELSAUX, B. **Use of transrectal B-mode ultrasound imaging in bovine pregnancy diagnosis.** *Vet. Rec*, v.121, p.200-202, 1987. Apud: PUGLIESI, G; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T. K.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BINELLI, M. **Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos.** *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

HERZOG, K.; BROCKHAN-LÜDEMANN, M.; KASKE, M.; BEINDORFF, N.; PAUL, V.; NIEMANN, H.; BOLLWEIN, H. **Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size.** *Theriogenology*, v.73, p.691-697, 2010.

HERZOG, K.; VOSS, C.; KASTELIC, J. P.; BEINDORFF, N.; PAUL, V.; NIEMANN, H.; BOLLWEIN, H. **Luteal blood flow increases during the first three weeks of pregnancy in lactating dairy cows.** *Theriogenology*, v.75, p.549-554, 2011.

IBGE, **Estatística da Produção Pecuária, Junho de 2017.** Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201701caderno.pdf&gws_rd=cr&dcr=0&ei=whwYWsmFNYiywASC8KngAg>. Acesso em 02 nov. 2017.

IN VITRO BRASIL. Disponível em: <<http://www.invitrobrasil.com/pt/institucional>>. Acesso em: 29 set.2017.
inseminacao artificial em tempo fixo. *Brazilian Journal Veterinary and Animal Science*, São Paulo, 2008.

KANTROWITZ, B.M.; NYLAND, T. G.; FISHER, P. **Estimation of portal blood flow using duplex real-time and pulsed Doppler ultrasound imaging in the dog.** *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v.30, p.222-226, 1989.

KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. **Ultrasonic-detection of the conceptus and characterization of intrauterine fluid on days 10 to 22 in heifers.** *Theriogenology*, v.35, p.569-581, 1991.

KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O. J. **Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers.** *Theriogenology*, v.33, p.1269-1278, 1990.

LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; DELANGHE, J. R.; OPSOMER, G.; VAN SOOM, A.; BOLS, P. E. J.; DEWULF, J.; DE KRUIF, A. **Metabolic changes in follicular fluid of the dominant follicle in high-yielding dairy cows early post partum.** *Theriogenology*, v. 62, n. 6, p. 1131–43, 15 set. 2004.

LOUPAS, T & GILL, R.W. **Principles of colour Doppler.** In: *Transvaginal colour Doppler: The Scientific basis and practical application of colour Doppler in gynaecology.* Springer- Verlag Berlin Heidelberg, p. 1- 11, 1995.

LUNETTA, V. N. **The school science laboratory: historical perspectives and contexts for contemporary teaching.** *International handbook of science education.* P 249-262, 1998.

LÜTTGENAU, J.; BOLLWEIN, H. **Evaluation of bovine luteal blood flow by using color Doppler ultrasonography.** *Biol Reprod*, v.14, p.103-109, 2014.

MACHADO, R.; CARNEIRO, M. A.; BERGAMASCHI, M.; BARBOSA, R. T.; MADUREIRA, E. H.; ALENCAR, M. M.; BINELLI, M. **Taxas de serviço, concepção e prenhez de vacas nelore tratadas com gonadotrofina coriônica humana e 17β-estradiol após a inseminação artificial em tempo**

fixo. Brazilian Journal veterinary Research animal Science, São Paulo, v.45, n.3, p.221-230, 2008

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

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. **Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows.** University of Nottingham, School of Biosciences, Division of Animal Physiology. v.121, p. 175-180, 2001.

MILKPOINT. **Sexagem fetal por ultrassonografia.** Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/ovinos-e-caprinos/sexagem-fetal-por-ultrassonografia-58056n.aspx>>. Acesso em 07 dez. 2017.

MITCHELL D. **Detection of foetal circulation in the mare and cow by Doppler ultra-sound.** Vet Rec, v.93, p.365-368, 1973. Apud: PUGLIESI, G; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T. K.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BINELLI, M. Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos. Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

MYIAMOTO, A.; SHIRASUNA, K.; HAYASHI, K.; KAMADA, D.; KAWASHIMA, C.; KANEKO, E.; ACOSTA, T. J.; MOTOZUMI, M. **A potential use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observations using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only black and white.** Journal of Reproduction and Development, 52:153-160, 2006.

NIELSEN, N. I.; INGVARTSEN, K. L. **Propylene glycol for dairy cows: A review of the metabolism of propylene glycol and its effects on physiological parameters, feed intake, milk production and risk of ketosis.** Animal Feed Science and Technology, v. 115, n. 3-4, p. 191–213, 2004.

NOGUEIRA, G. P. **Puberty in South American Bos indicus (Zebu) cattle.** Animal Reproduction Science, v. 82-83, p. 361–372, 2004.

NYLAND, T. G.; MATTON, J. S. **Ultra-som diagnóstico em pequenos animais.** 2.ed. São Paulo: Roca, 2005. 506 p.

OLIVEIRA, L. Z.; ARRUDA, R. P.; ANDRADE, A. F. C.; CELEGHINI, E. C. C.; SANTOS, R. M.; BELETTI, M. E.; PERES, R. F. G.; OLIVEIRA, C. S.; LIMA, V. F. M. H. **Assessment of field fertility and several *In Vitro* sperm characteristics following the use of different Angus sires in a timed-AI program with suckled Nelore cows.** Livestock Science, v. 146, n. 1, p. 38–46, 2012.

OLIVEIRA, V. S. A.; BONATO, G. L.; SANTOS, R. M. **Eficiência Reprodutiva de Vacas Primíparas da Raça Nelore.** Acta Scientiae Veterinariae. v. 39, n. 2. Porto Alegre – RS, 2011.

OYEN, R. H. **Scrotal ultrasound**. *European Radiology*, v.12, p.19-34. 2002.

PANARACE, M.; GARNIL, C.; MARFIL, M.; JAUREGUI, G.; LAGIOIA, J.; LUTHER, E.; MEDINA, M. **Transrectal Doppler sonography for evaluation of uterine blood flow throughout pregnancy in 13 cows**. *Theriogenology*, v.66, p.2113-2119, 2006.

PEGORER, M. F. **Taxas de Ovulação e Prenhez em Novilhas Nelore Cíclicas Após Utilização de Protocolos para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), com Diferentes Concentrações de Progesterona, Associadas ou Não a Aplicação de eCG**. Tese (Doutorado). Botucatu – SP, 2009.

PENTEADO, L. **Ajuste no descongelamento de sêmen aumenta prenhez**. *Revista DBO*, São Paulo, 21 de jul. 2017. Disponível em: <<http://www.portaldbo.com.br/Revista-DBO/Noticias/Ajuste-nodescongelamento-de-semen-aumenta-prenhez/21504>>. Acesso em: 27 ago. 2017.

PEREIRA, M. H. C.; COOKE, R. F.; ALFIERI, A. A.; VASCONCELOS, J. L. M. **Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of lactating dairy cows submitted to AI**. *Animal Reproduction Science*, v. 137, n. 3-4, p. 156–162, 2013.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. **Ultrasonography for detection of pregnancy and study of embryonic development in heifers**. *Theriogenology*, v.22, p.225-233, 1984. Apud: PUGLIESI, G; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T. K.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BINELLI, M. **Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos**. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

PIETERSE, M. C.; TAVERNE, M. A.; KRUIP, T. A.; WILLEMSE, A. H. **Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation**. *Vet Rec*, v.126, p.552-554, 1990.

PINAFFI, F. L. V.; SANTOS, E. S.; SILVA, M. G.; MATURANA FILHO, M.; MADUREIRA, E. H.; SILVA, L. A. **Follicle and corpus luteum size and vascularity as predictors of fertility at the time of artificial insemination and embryo transfer in beef cattle**. *Pesq Vet Bras*, v.35, p.470-476, 2015.

PONTES, J. H. F.; SILVA, K. C. F.; BASSO, A. C.; RIGO, A. G.; FERREIRA, C. R.; SANTOS, G. M. G.; SANCHES, B. V.; PORCIONATO, J. P. F.; VIEIRA, P. H. S.; FAIFER, F. S.; STERZA, F. A. M.; SCHENK, J. L.; SENEDA, M. M. **Large-scale *In Vitro* embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm**. *Theriogenology*, v. 74, n. 8, p. 1349–55, nov. 2010.

PUGLIESI, G.; MIAGAWA, B. T.; PAIVA, Y. N.; FRANÇA, M. R.; SILVA, L. A.; BINELLI, M. **Conceptus-induced changes in the gene expression of blood immune cells and the ultrasound-accessed luteal function in beef cattle: How early can we detect pregnancy?** *Biol Reprod*, v.95, p.1-12, 2014.

PUGLIESI, G.; PINAFFI, F. L. V.; BEG M. A.; GINTHER, O. J. **Use of corpus luteum area as a predictor of ongoing functional luteolysis in dairy heifers.** *Reprod, Fert and Develop*, v.25, p. 235, 2013.

PUGLIESI, G.; REZENDE, R. G.; SILVA, J. C. B.; LOPES, E.; NISHIMURA, T. K.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; BINELLI, M. **Uso da ultrassonografia Doppler em programas de IATF e TETF em bovinos.** *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, Belo Horizonte, v.41, n.1, p.140-150, 2017.

PUGLIESI, G.; SANTOS, F.B.; LOPES, E.; NOGUEIRA, É.; MAIO, J. R.; BINELLI, M. **Improved fertility in suckled beef cows ovulating large follicles or supplemented with long-acting progesterone after timed-AI.** *Theriogenology*, v.85p.1239-1248, 2016.

REZENDE, R. G.; FREITAS, B.G.; MINGOTI, R. D.; COLLI, M. H. A.; CARVALHO, J. B. P; SÁ FILHO, M. F; MOTTA, J. C. L.; MACEDO, G. G.; BARUSELLI, P. S. **Follicular dynamics of Nelore cows submitted to resynchronization 14 days after TAI using injectable P4 for synchronization of follicular wave.** *Anim Reprod*, v.13, p.233, 2016.

ROELOFS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; HUNTER, R. H. F.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; HANZEN, C. **When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects.** *Theriogenology*, v. 74, n. 3, p. 327–344, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; CRESPILO, A. M.; SANTOS, J. E. P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. **Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows.** *Animal Reproduction Science*, v. 120, n. 1-4, p. 23–30, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; MARQUES, M. O.; GIROTTO, R.; SANTOS, F. A.; SALA, R. V; BARBUIO, J. P.; BARUSELLI, P. S. **Resynchronization with unknown pregnancy status using progestin-based timed artificial insemination protocol in beef cattle.** *Theriogenology*, v. 81, n. 2, p. 284–90, 2014.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E. L.; REIS, T. A. N. P. S.; GALVÃO, K. N.; BARUSELLI, P. S. **Timed artificial insemination early in the breeding season improves the reproductive performance of suckled beef cows.** *Theriogenology*, v. 79, n. 4, p. 625–632, 2013.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. **Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols.** *Theriogenology*, v. 76, n. 3, p. 455–463, 2011.

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

SCULLY, S.; EVANS, A.C.; DUFFY, P.; CROWE, M. A. **Characterization of follicle and CL development in beef heifers using high resolution three-dimensional ultrasonography**. Theriogenology, v.81, p.407-418, 2014.

SILVA L. A.; GINTHER O. J. **Local effect of the conceptus on uterine vascular perfusion during early pregnancy in heifers**. Reproduction, v.139, p.453-463, 2010.

SILVA, L. R.; GOTTSCHALL, C. S. **Desempenho Reprodutivo de Novilhas de Corte Submetidas a Diferentes Protocolos para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)**. Revista de Iniciação Científica da ULBRA. n. 12, p. 5-13. Canoas – RS, 2014.

SIQUEIRA, L. G. B.; AREAS, V. S.; GHETTI, A. M.; FONSECA, J. F.; PALHAO, M. P.; FERNANDES, C. A.; VIANA, J. H. M. **Color Doppler flow imaging for the early detection of nonpregnant cattle at 20 days after timed artificial insemination**. J DairySci v.96, p.6461-6472, 2013.

STEVENSON, J. S.; JOHNSON, S. K.; MEDINA-BRITOS, M. A.; RICHARDSON-ADAMS, A. M.; LAMB, G. C. **Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both**. v. 81, p. 1681–1692, 2003.

SZATMÁRI, V.; SÓTONYI, P.; VOROS, K. **Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review**. Veterinary Radiology & Ultrasound, v.42, n.2, p.93-107, 2001.

USDA/FAO. **Rebanho total dos principais países em termo de efetivo de animais**. Disponível em: <<http://www.farmnews.com.br/analises-mercado/produtores-de-carne-bovina/>>. Acesso em 02. nov. 2017.

VASCONCELOS, J. L. M. **As seis estratégias de sucesso para melhorar a eficiência reprodutiva e produtiva de sua fazenda**. BeefPoint. Disponível em: < <https://app.webinarjam.net/register/21559/93b08fc79d>>. Acesso em 14 jul. 2017.

VIEIRA, L. M.; SÁ FILHO, M. F.; PUGLIESI, G.; GUERREIRO, B. M.; CRISTALDO, M. A.; BATISTA, E. O. S.; FREITAS, B. G.; CARVALHO, F. J.; GUIMARÃES, L. H. C.; BARUSELLI, P. S. **Resynchronization in dairy cows 13 days after TAI followed by pregnancy diagnosis based on corpus luteum vascularization by color Doppler**. Anim Reprod, v.11, p.378, 2014.

VIZIACK, M. P.; GIROTTO, R. W.; VIEIRA, L. M.; COLLI, M. H. A.; MINGOTI, R. D.; REZENDE, R. G.; SÁ FILHO, M. F. **Taxa de prenhez em vacas nelore sincronizadas com dispositivo Ferticare 1200® novo ou usado submetidas à IATF 48 ou 54 horas após a remoção do dispositivo**. Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões. 2016.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S.; **Postpartum Acyclicity in Suckled Beff Cows.** A Review. *Theriogenology*. v. 54, n. 1, p. 24-55. 2000.