

Escola Superior São Francisco de Assis
Curso de Graduação em Medicina Veterinária

André Luis Nascimento Lima
João Victor Mendonça de Oliveira
Michely De Almeida Pittelkow

**O USO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) NA INDUÇÃO
DE PUBERDADE DE NOVILHAS DA RAÇA GIROLANDO**

Santa Teresa
2023

André Luis Nascimento Lima
João Victor Mendonça de Oliveira
Michely De Almeida Pittelkow

**O USO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) NA INDUÇÃO
DE PUBERDADE DE NOVILHAS DA RAÇA GIROLANDO**

Projeto de pesquisa apresentado à
Coordenação de Medicina Veterinária da
Escola Superior São Francisco de Assis,
como requisito parcial obtenção de nota
na disciplina de Trabalho de Conclusão
de Curso II.

Orientador: Karolliny Merlo Goehringer

Co-orientador: Samuel Rodrigues Alves

Santa Teresa

2023

André Luis Nascimento Lima
João Victor Mendonça de Oliveira
Michely De Almeida Pittelkow

O USO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) NA INDUÇÃO DE PUBERDADE DE NOVILHAS DA RAÇA GIROLANDO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Medicina Veterinária da Escola Superior São Francisco de Assis como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em 14 de dezembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Karolliny Merlo Goehringer
Escola Superior São Francisco de Assis

Prof. Ana Paula Airosa Castro
Centro Universitário FAESA

Prof. Leonardo Campos Almeida
Centro Universitário do Espírito Santo - UNESC

EPÍGRAFE

*“A pecuária é uma atividade onde as pessoas acham muito,
observam pouco e não medem praticamente nada.”*

- Fernando Penteado Cardoso

AGRADECIMENTOS

Agradecemos primeiramente a Deus, pois ele nos guiou e permitiu-nos que até aqui chegássemos. Grandes coisas fez o Senhor.

Aos nossos familiares, que tanto torceram e tanto fizeram em prol do nosso sucesso, a eles dedicamos todo nosso orgulho e admiração. Obrigado por acreditarem em nós quando nem nós mesmos acreditávamos.

Aos nossos amigos, que tornaram esta caminha mais leve. Agradecemos pelos sorrisos e pelo ombro consolador quando nada parecia dar certo.

A Fazenda Marrinha, que disponibilizou seus animais e toda sua infraestrutura para a realização do experimento.

Ao médico veterinário Werner Binda, que não mediu esforços para nos ajudar a desenvolver e conduzir a pesquisa.

Ao médico veterinário Caíque, representante da Agener União, a qual disponibilizou todos os fármacos utilizados nesta pesquisa.

E por fim, aos nossos orientadores, Professor Samuel Rodrigues Alves e a Professora Karolliny Merlo Goehringer, não só por nos ajudarem a concluir nosso trabalho de conclusão de curso, mas também por contribuírem com a nossa formação como pessoas e como médicos veterinários.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação ilustrativa do sistema reprodutor feminino de bovinos. ...	12
Figura 2 - Protocolo de indução de novilhas realizado por CHAVES, 2019.	19
Figura 3 – Delineamento Experimental.....	30
Figura 4 - Protocolo de Transferência de Embrião em Tempo Fixo (TETF).	30
Figura 5 – Tonicidade uterina.	32
Figura 6 – Taxa de resposta.....	33
Figura 7 – Taxa de prenhez.....	33
Figura 8 – Proporção de Resposta dado o grupo de tratamento.....	34
Figura 9 – Proporção de animais que ficaram prenhes segundo o tratamento.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação entre grupos.	34
Tabela 2 - Número de animais segundo a tonicidade e grupo de tratamento.....	35
Tabela 3 - Frequência de resposta segundo a tonicidade e tratamento.	35
Tabela 4 - Probabilidade de resposta dada a tonicidade do útero e o grupo de intervenção.....	36
Tabela 5 - Probabilidade de resposta conforme a tonicidade do útero, dado o grupo de intervenção.....	37
Tabela 6 – Taxa de resposta X Prenhez.....	39
Tabela 7 - Probabilidade de prenhez dado a tonicidade do útero e o grupo de intervenção.....	40
Tabela 8 - Probabilidade de um animal ficar prenhe dada a resposta, determinada tonicidade uterina, e o grupo do animal.	40
Tabela 9 – Avaliação ginecológica inicial das fêmeas.	41

LISTA DE SIGLAS

AG	Avaliação Ginecológica
BE	Benzoato de Estradiol
BST	Somatotropina Bovina
CE	Cipionato Estradiol
CH	Corpo Hemorrágico
CL	Corpo Lúteo
D0	Dia 0
D12	Dia 12
D24	Dia 24
DIC	Delineamento Inteiramente Casualizado
E2	Estrógeno
ECC	Escore De Condição Corporal
FD	Folículo Dominante
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GH	Hormônio do crescimento
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
HHG	Hipotalâmico-Hipofisário-Gonadal
IGF-1	Fator De Crescimento Semelhante À Insulina Tipo 1
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IPP	Intervalo Pós-Parto

LH	Hormônio Luteinizante
NRC	National Research Council (NRC)
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina F2 α
PIB	Produto Interno Bruto
RBST	Somatotropina Bovina Recombinante
TBST	Tratamento Progesterona + Cipionato Estradiol + Somatotropina bovina
TC	Tratamento Controle
TETF	Transferência De Embrião Em Tempo Fixo
TP	Tratamento Progesterona
TPE	Tratamento Progesterona + Cipionato Estradiol
UI	Unidades internacionais

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 ANATOMIA DO SISTEMA REPRODUTOR DA FÊMEA BOVINA.....	12
2.2 FISILOGIA DO CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA	13
2.3 FISILOGIA APLICADA À PUBERDADE DA FÊMEA BOVINA	15
2.4 FATORES QUE INTERFEREM NO INÍCIO DA PUBERDADE	16
2.5 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA	17
2.6 PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE PUBERDADE EM NOVILHAS	19
2.7 SOMATOTROPINA BOVINA (BST)	20
2.8 SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) E IGF-1 NA REPRODUÇÃO.....	21
2.9 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM TEMPO FIXO (TETF)	22
3 JUSTIFICATIVA.....	24
4 OBJETIVOS.....	25
4.1 OBJETIVO GERAL.....	25
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
5 ARTIGO CIENTÍFICO	26

6 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, o primeiro trimestre do ano de 2023 foi marcado por um crescimento de 1,9% no Produto Interno Bruto (PIB) do país segundo estatísticas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE). Este feito só foi possível graças ao setor agropecuário, que é responsável por 8% de toda economia do país, e cresceu 21% durante os três primeiros meses do ano. A bovinocultura, tanto corte como leite, compõem parte deste resultado, e para que estes números continuem a crescer, é necessário que a quantidade de bezerros nascidos também aumente, a fim de garantir a manutenção da taxa de reposição de todo o gado (Silva *et al.*, 2019).

Dessa forma, a fase de recria merece atenção especial, coordenação e gestão para garantir os lucros da atividade leiteira, porém muitas vezes é negligenciada por ser um investimento de retorno tardio (Hoffman e Funk, 1992). Um dos grandes problemas desta fase está na puberdade tardia e idade do primeiro parto das novilhas (Ferreira *et al.*, 2012). Assim, antecipar a idade com que estes animais entrem em puberdade pode revelar um maior número de bezerros, além de maior longevidade reprodutiva da fêmea (Cardoso *et al.*, 2007).

Protocolos hormonais de indução de puberdade têm sido amplamente empregados com a finalidade de melhorar índices reprodutivos do rebanho, antecipando a entrada de novilhas no período reprodutivo (Santos *et al.*, 2018). Para efetivar esta estratégia, a progesterona (P4), seja por dispositivo intravaginal ou injetável, e o estrógeno (E2) estão sendo vastamente utilizados como método de indução da onda folicular (Bó *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2018).

Além disso, Ribeiro e colaboradores relataram no ano de 2020 o emprego da Somatotropina Bovina Recombinante (RBST) na produção *in vivo* e na maturação *in vitro* de oócitos bovinos da raça Sindi, que evidenciou resultados positivos quanto ao emprego do fármaco, obtendo maior porcentagem de folículos grandes e oócitos viáveis *in vitro*. Logo, o emprego do RBST na indução de puberdade de novilhas girolando também poderá apresentar resultados satisfatórios.

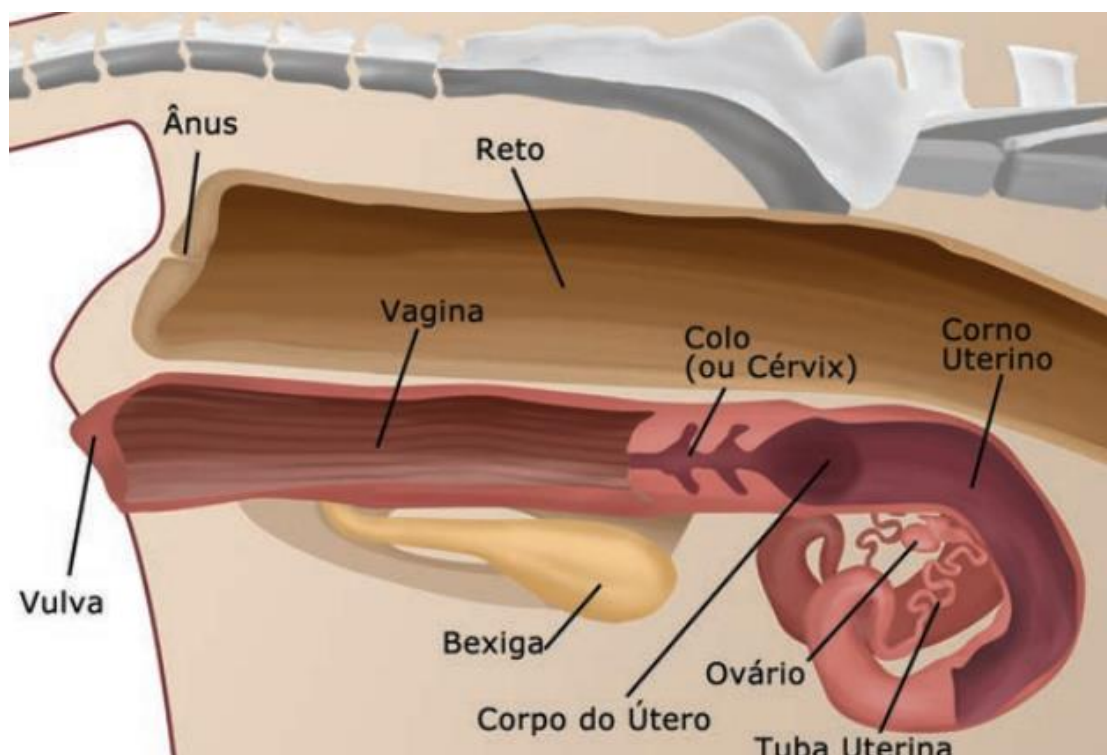
Dessa forma, é imprescindível estudos observando o emprego da Somatotropina Bovina Recombinante (RBST), adjunto a outros hormônios sintéticos com objetivo de estimular a puberdade em novilhas da raça Girolando.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA DO SISTEMA REPRODUTOR DA FÊMEA BOVINA

O estudo da reprodução bovina envolve várias áreas do conhecimento das ciências veterinárias. O entendimento correto dos sistemas de produção, fisiologia, anatomia, aplicação das técnicas de melhoramento genético e de tecnologias da reprodução são essenciais para maximizar a produtividade destes animais. Em fêmeas bovinas, o sistema reprodutor é formado por dois ovários, tubas uterinas ou ovidutos, útero, que é composto por um corpo e dois cornos, cérvix ou colo uterino, vagina, vestíbulo e vulva (Frandsen *et al.*, 2016) (Figura 1).

Figura 1 - Representação ilustrativa do sistema reprodutor feminino de bovinos.



(Fonte: Coleção Senar 132, Inseminação Artificial)

A vulva, composta por dois lábios vulvares e pelo clitóris, possui a função de ocluir o trato reprodutivo da fêmea e permitir o alojamento do órgão copulador masculino. O clitóris é fundamental na concepção, uma vez que promove contração uterina, facilitando a ação dos espermatozoides (Niciura, 2008).

A vagina é formada por uma superfície epitelial, muscular e pela camada mucosa. Além de ser o órgão copulador da fêmea, também é canal de passagem do feto durante o parto (Freitas *et al.*, 2022). Entre a vagina e o útero localiza-se uma estrutura fibrosa, dividida em pregas, que são cognominadas de anéis cervicais. A cérvix é uma barreira física que se abre apenas no momento do parto ou no período estral, que é quando o animal apresenta cio (Soares *et al.*, 2019).

O útero é constituído de três camadas, uma mais interna, denominada endométrio, que é onde o conceito se fixa e desenvolve-se durante o período gestacional. A camada intermediária é composta por musculatura lisa e denominada de miométrio. Já a camada mais externa é uma membrana serosa, formada pelo peritônio visceral, o perimétrio (Silva, 2022).

A ligação entre os ovários e o útero é realizada pelo oviduto ou tuba uterina. O órgão é dividido em três estruturas funcionais: o infundíbulo, cuja função é fazer as capturas dos oócitos após a sua liberação, a ampola, que é o perímetro deste órgão em que ocorre a fecundação, e por fim, o istmo, que recebe os espermatozoides e, por meio de contrações, os conduz até o infundíbulo (Soares & Junqueira, 2018).

Por fim, os ovários, além da gametogênese, também são responsáveis pela síntese de hormônios esteroides. São estruturas pares, e divididos em zona medular e cortical. A medula é parte mais interna do órgão, formada de tecido conjuntivo e uma rede vascular e nervosa. Recobrando o mesovário está a zona cortical, que é preenchida pelos folículos ovarianos em diferentes estágios que, após a ovulação, formam os corpos lúteos (CL) (Nogueira *et al.*, 2017).

2.2 FISILOGIA DO CICLO ESTRAL DA FÊMEA BOVINA

O ciclo estral é originado através de uma interação entre hormônios, sistema reprodutor feminino (útero e ovários) e sistema neuroendócrino (hipófise e hipotálamo) (Weeb & Armstrong, 1998). Deste processo participam principalmente seis hormônios: o Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), produzido pelo hipotálamo e com função de promover estímulos secretórios do Hormônio Luteinizante (LH) e Hormônio Folículo Estimulante (FSH). O LH e FSH são sintetizados pela adenohipófise, sendo o primeiro responsável por formar e manter o CL, e o FSH participa da

esteroidogênese, crescimento e maturação folicular. Já o estrógeno (E2) é produzido pelos folículos, possui feedback positivo sobre o hipotálamo, e é o hormônio responsável pela manifestação visual de cio. Por último, a progesterona (P4), é concebida por CL e atua preparando o ambiente uterino para receber um conceito (Weeb & Amstrong, 1998; Rippe, 2009).

O entendimento do ciclo estral é de suma importância para que se faça um controle correto da dinâmica reprodutiva. Senger (2003) descreve que o ciclo estral compreende um período que varia de 18 a 24 dias, e pode ser dividido em quatro fases: estro, metaestro, proestro e diestro.

O estro possui duração de 6 a 21 horas em animais taurinos, e é a etapa mais marcante do ciclo estral, uma vez em que a fêmea se mostra receptiva para a cópula, apresenta útero túrgido, cérvix relaxada, hiperemia em vulva e vagina e corrimento vaginal cristalino. Nesta fase, os níveis de E2 estão em grande concentração, o oposto da P4, que está baixa, já que não há presença de CL (Ferreira, 2010). Em resposta aos elevados níveis de E2, ocorre concomitantemente o aumento de LH (Carvajal, *et al.*, 2020).

O Metaestro inicia-se após o pico de produção de E2, que como consequência, promove o rompimento do folículo, fase denominada ovulação (Carvajal, *et al.*, 2020). Em seguida, começa-se a formação do CL, que inicialmente é denominado de Corpo Hemorrágico (CH) (Ferreira, 2010). O pico de LH ocorre mediante aos altos níveis de E2, que estava sendo produzido pelo folículo maduro (Rathbone *et al.*, 2001). Com a queda de E2 que ocorre após a ovulação, os níveis de P4 começam a se elevarem gradualmente, preparando o útero para manter uma gestação (Carvajal, *et al.*, 2020). O metaestro se insere desde o final do estro até o 5º dia do ciclo estral (Bowen & Burghardt, 2000).

Assim que o CL se torna funcional, ou seja, produz P4 e está responsivo a Prostaglandina F2 α (PGF2 α), inicia-se o diestro. Esta fase compreende níveis elevados de P4, que se manterão assim caso haja a gestação. Todavia, não havendo a fecundação, o CL será destruído por ação da PGF2 α , e os níveis de P4 irão declinar. Esta fase do ciclo possui duração média de 16 dias (Cunha *et al.*, 2019).

A última fase do ciclo estral é chamada de proestro. Tem início após a ação da $\text{PGF2}\alpha$, lise do CL e declínio de P4 . Assim, inicia-se maior liberação de FSH e elevação do E2 circulante (Ferreira, 2010).

O desenvolvimento de folículos ovarianos ocorre através do estabelecimento de ondas, que envolvem o crescimento e regressão de folículos antrais. Este processo é denominado dinâmica folicular (Ginther *et al.*, 1989). Na fase de emergência, folículos pequenos são recrutados e irão crescer concomitantemente através da liberação de FSH. Assim, irão manter seu crescimento até começarem a exibir a esteroidogênese, onde um folículo apenas se sobressairá e será chamado de Folículo Dominante (FD), enquanto demais folículos irão regredir (Adams *et al.*, 1992, Lucy *et al.*, 1992).

A baixa concentração de P4 , e aumento na produção folicular de E2 promove feedback positivo com GnRH, estabelecendo maior secreção de LH, e estimulando o processo de ovulação, reiniciando o ciclo (Fortune, 1993).

2.3 FISILOGIA APLICADA À PUBERDADE DA FÊMEA BOVINA

Jones *et al.*, e colaboradores, em 1991, definiu que a puberdade é marcada pelo primeiro dia em que a fêmea apresentará concentração plasmática de P4 superior a 1ng/ml . Em contrapartida, Araújo e colegas pesquisadores (2019), afirmam que puberdade é um evento fisiológico que evidencia o início da atividade reprodutiva da fêmea, em que há a primeira ovulação viável, formação do corpo lúteo e manifestação de cio.

Novilhas leiteiras, em condições ideais de sanidade e nutrição, podem atingir esta fase em torno de 11 a 12 meses. Todavia ainda não são consideradas aptas para manter uma gestação (Silva, 2022). Através da interação entre ambiente, nutrição, genética e mecanismos endócrinos é definido o início da atividade reprodutiva, havendo perda da sensibilidade do feedback negativo gerado pelo E2 (Moran *et al.*, 1989).

Para este processo, a atuação do LH é fundamental para que a novilha se torne púbere. Nos primeiros 2 meses após o nascimento da cria, já existe o estabelecimento de secreção pulsátil de LH, que é aumentada entre 3 e 5 meses de idade. Após isto, ocorre a chamada fase estática, em que os níveis de LH declinam e se mantêm baixos

até o início da fase pré púbere, que culmina no aumento de secreção de LH, gerando a puberdade (Schams *et al.*, 1981; Anderson *et al.*, 1996).

Após o evento do parto, no período pós-natal, o animal já é capaz de produzir pequenas quantidades E2 pelos folículos ovarianos (Rodrigue; Wise, 1991). Assim, a sensibilidade do feedback negativo diminuí estimula o aumento das secreções de GnRH, e conseqüentemente, do LH, promovendo maturação dos folículos ovarianos, ovulação e formação de CL. Este processo irá garantir a produção de P4 e o prosseguimento do ciclo estral. (Ramirez e Mccann, 1963; Evans *et al.*, 1994).

2.4 FATORES QUE INTERFEREM NO INÍCIO DA PUBERDADE

Diversos são os fatores que podem atuar sobre o início do período púbere de novilhas. Barroso e colaboradores (2020) definem que as condições ligadas a puberdade envolvem genética, nutrição e sanidade.

Animais taurinos e zebuínos tendem a alcançar a puberdade em períodos diferentes (Rodrigues *et al.*, 2002). Novilhas *Bos taurus taurus* são geralmente mais precoces, atingindo período púbere entre 10 e 15 meses. Já animais *Bos taurus indicus*, são mais tardios, alcançando a puberdade de 22 e 36 meses (Santos; Sá Filho, 2006).

Um estudo realizado em 1959 por Sorensen e colaboradores, demonstrou que a puberdade não está associada a idade, e sim ao peso do animal. O National Research Council (NRC), em sua publicação de 1996, indica que animais Taurinos entram em período púbere com 60% do peso vivo corporal de um animal adulto, e zebuínos aos 65% do peso corporal final. Assim, é evidente que a nutrição é um fator primordial para anteceder o início da atividade reprodutiva de novilhas.

Animais jovens, cuja dieta é restrita a forragem, ocorre um menor desenvolvimento das papilas ruminais. Assim, incorporar grãos ou concentrados na alimentação destes animais assegura um crescimento eficiente (Bittar *et al.*, 2016). O FD é fundamental durante o ciclo estral da fêmea, e após a sua liberação, e posterior formação de CL, há produção de P4, que auxiliará durante todo processo gestacional. Logo, uma dieta restritiva pode diminuir a taxa de crescimento folicular e promover maior permanência do folículo no ovário (Diskin *et al.*, 2003; Fonseca, 2017).

A elevada densidade energética e o alto consumo de matéria seca caracterizam uma dieta que objetiva o ganho de peso. Dessa forma, haverá acúmulo de energia corporal que se dará através da lipogênese, processo pelo qual há deposição de gordura no subcutâneo e está inteiramente ligado a puberdade por meio da ação da leptina (Spicer, 2001).

A leptina é um mensageiro adipostático que atua como sinalizador da condição corporal do animal no hipotálamo (Spicer, 2001), influenciando na liberação de GnRH e gonadotrofinas, assumindo papel fundamental na fertilidade da fêmea. Logo, dietas energéticas colaboram para aumentar o Escore de Condição Corporal (ECC) do animal, além de promover maior sinalização pela leptina (Costa e Duarte, 2006). Pereira *et al.* (2017) demonstrou em seu experimento, acerca da influência do ECC de novilhas de corte sob o início do período púbere, que animais com baixo ECC são mais tardios em relação a aqueles com maior ECC.

Apesar dos efeitos positivos, a leptina quando produzida em excesso antagoniza a ação do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1), insulina e produção de estradiol (Barb & Kraeling, 2002; Williams *et al.*, 2002; De La Hoya *et al.*, 2015).

O IGF-1 tem sua produção estimulada pelo hormônio do crescimento (GH), e atua em sinergismo com o FSH (Fortune *et al.*, 2004), estimulando o crescimento folicular, e consequentemente, aumentando a esteroidogênese (Lucy, 2000). Dessa forma, o IGF-1 se caracteriza como um fator primordial para o início e manutenção da vida reprodutiva bovina.

2.5 AVALIAÇÃO REPRODUTIVA

Os métodos de avaliação do trato reprodutivo de fêmeas bovinas consistem na avaliação física, nutricional, palpação transretal manual e através do uso da ultrassonografia. Nos últimos anos, a utilização desta biotecnologia vem sendo cada vez mais difundida, já que é possível monitorar de forma fidedigna a fisiologia reprodutiva da fêmea bovina, avaliar o estado uterino e atividade ovariana, principalmente quando comparado a própria palpação retal (Fissore *et al.*, 1986).

Um dos grandes embargos na reprodução de bovinos são os animais acíclicos, ou seja, que não possuem ciclicidade, não estando aptos a reprodução. Esta estagnação reprodutiva pode estar associada a patologias ovarianas ou anestro, podendo ser identificada sua origem e realizado o tratamento conforme a apresentação clínica do animal. Assim, a avaliação ovariana e uterina, através da palpação transretal e do ultrassom garantem meios para melhorar os índices reprodutivos do rebanho (Gonzalez-Padilla *et al.*, 1975; Smith *et al.*, 1983; Beal *et al.*, 1984; Beal & Good, 1986; Williams, 1990).

A ultrassonografia também auxilia no diagnóstico diferencial de cistos, corpos lúteos, e no diagnóstico gestacional precoce, mostrando-se uma ferramenta com grande potencial para auxiliar no desenvolvimento pecuário. Animais que apresentam corpo lúteo, podem ser tratados através do uso de agentes luteolíticos, como a prostaglandina F2 α . Já animais não cíclicos, os tratamentos mais adequados são a utilização de progestágenos (Implantes ou P4 injetável) (Sprecher & Nebel, 1988).

A avaliação ovariana durante a ultrassonografia em bovinos permite avaliar duas estruturas principais: os folículos e o CL. Os folículos adquirem formato esférico, fluido, anecoico e tamanhos. O diâmetro das estruturas pode ser medido e o líquido celular também pode ser identificado e caracterizado. Assim, é possível saber se um folículo é dominante ou pré ovulatório. Para determinar a fase do ciclo estral em que o animal se encontra, é necessário avaliar se há a presença do CL. Em alguns casos, durante avaliação de CL, alguns destes não se projetam suficientemente a superfície do ovário para serem palpados manualmente, ou estão em fase hemorrágica, podendo ser confundidos com folículos. Nestes casos, com auxílio da ultrassonografia, fica possível identificar CL's não palpáveis, e diferenciar folículos de CH (Griffin & Ginther, 1992).

Segundo Herzog e Bollwein (2007), o conhecimento acerca da dinâmica folicular, o entendimento do ciclo ovariano das fêmeas bovinas e o exame ultrassonográfico do trato reprodutivo de vacas e novilhas indicam em que fase do ciclo estral a fêmea se encontra. Com os avanços tecnológicos e ferramentas como o ultrassom com Doppler colorido, é possível avaliar o fluxo sanguíneo demandado pelos folículos e CL. Esta observação torna possível precisar momentos de regressão do CL e ovulação.

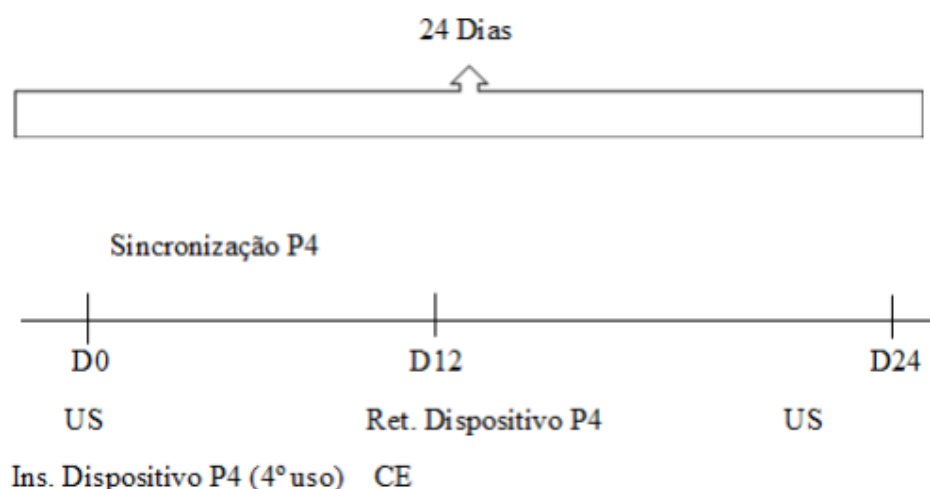
Santiago (2002) avaliou com auxílio de um aparelho ultrassonográfico a variação existente entre os diâmetros foliculares de novilhas. Verificou variações de 8,91mm até e 17,44 com animais tratados para terem superovulação. Dessa forma, verificou-se que folículos com diâmetro superior a 8 mm são denominados de FD.

2.6 PROTOCOLOS DE INDUÇÃO DE PUBERDADE EM NOVILHAS

Além da genética, nutrição e sanidade dos animais, a utilização de fontes exógenas de P4 pode estimular a circulação sanguínea da fêmea antes mesmo da primeira ovulação, e em conjunto com fontes de E2, contribui para que as novilhas antecipem o período púbere (Vilela, 2021). Não obstante, a efetividade destes tratamentos apresentará resultados satisfatórios apenas quando o animal já estiver próximo da puberdade (Guerreiro, 2009; Chaves, 2019).

A técnica visa, por meio da terapia hormonal, induzir uma ovulação por meio da modulação eixo hipotalâmico-hipofisário gonadal, induzindo á puberdade elevando a sintetização de gonadotrofinas (Bó *et al.*, 2018). Dessa forma, o protocolo de indução consiste na utilização de um dispositivo intravaginal de P4 no dia 0 (D0) ou de forma injetável. Já no dia 12 (D12) acontece a retirada do dispositivo quando utilizado e é feita a aplicação de cipionato de estradiol nos animais (Chaves, 2019) (Figura 2).

Figura 2 - Protocolo de indução de novilhas realizado por Chaves, 2019.



Fonte: Chaves, 2019

US: Ultrassonografia; P4: Progesterona; CE: Cipionato Estradiol; D0: Dia 0; D12: Dia 12; D24: Dia 24.

Um estudo realizado por Magi (2020), avaliou animais que receberam dispositivo intravaginal de P4 associado ao uso de cipionato de estradiol, em comparação ao segundo tratamento, em que os animais receberam apenas P4 injetável. Ao final do experimento todos os animais foram submetidos a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), revelando maior taxa de prenhez nos animais que receberam a P4 intravaginal e Cipionato Estradiol.

Para que os tratamentos hormonais sejam eficazes, é preciso estar atento a dose a ser utilizada, tempo de exposição do animal ao fármaco, e manejo (Junior et al., 2010).

2.7 SOMATOTROPINA BOVINA (BST)

Dentre os hormônios de crescimento, a somatotropina bovina (BST) foi um dos primeiros hormônios recombinantes que conseguiram produzir em larga escala (Bauman, 1992). A proteína bovina recombinante (RBST) difere do natural por poucos aminoácidos na sua constituição, cerca de até 8 podendo variar de acordo com o processo de fabricação. A produção do hormônio se dá através da técnica de DNA recombinante em *Escherichia coli* (Santos et al., 2001).

O IGF-1 é encontrado em maior quantidade no fígado, sendo reconhecido como o principal sítio de produção desse fator, expressando quantidade significativa de receptores para a BST e produzindo IGF-1 em resposta ao tratamento com RBST (Gluckman et al., 1987; Peel & Bauman, 1987). Este fator tem sido associado com diversas características reprodutivas, tais como: a idade ao primeiro parto (Yilmaz et al., 2006; Brickell et al., 2007), a taxa de concepção ao primeiro serviço (Patton et al., 2007), dupla ovulações (Echternkamp et al., 2004), e no desenvolvimento do embrião (Velazquez et al., 2005). Alguns autores relacionaram baixas concentrações de IGF-1 com o aumento do intervalo pós-parto (IPP) em vacas de corte (Rutter et al., 1989; Nugent et al., 1993; Roberts et al., 1997) e atraso ao início da fase de puberdade (Granger et al., 1989).

2.8 SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) E IGF-1 NA REPRODUÇÃO

A somatotropina bovina recombinante (RBST), tem sido utilizada pensando principalmente em fatores produtivos e reprodutivos, visto que, segundo Saraiva e colaboradores (2020), o hormônio do crescimento tem participação ativa na dinâmica folicular e no desenvolvimento embrionário. Ainda assim, segundo Lucy (2000), a RBST é tida como uma substância que acarreta o aumento de receptores para o IGF-1, favorecendo o recrutamento folicular ovariano. A RBST aumenta a quantidade de folículos na fase de recrutamento da onda folicular (Kirby, C.J.; Lucy, M.C; Smith, M.F., 1995). Esta resposta é observada na primeira e na segunda onda folicular e pode ser associada com aumento de IGF-1 no sangue de vacas suplementadas com RBST.

A RBST quando administrada por via subcutânea, permanece circulante por até três semanas (Cushmann *et al.*, 2001). Segundo Lucy (2000), a maior influência da RBST na reprodução é feita de modo indireto, através do IGF-I, o que gera melhores resultados reprodutivos. Alguns pesquisadores relataram o potencial do tratamento com RBST em aumentar a quantidade de FD (Tanner & Hauser, 1989; Gong *et al.*, 1991).

Em ovários bovinos, foi constatada a presença de receptores de GH no oócito de folículos primordiais e nas células da granulosa de folículos primários e secundários (Kölle *et al.*, 1998). O IGF-1 no sangue atua de forma sinérgica com as gonadotrofinas LH e FSH, estimulando o crescimento folicular (Hammond *et al.*, 1991)

Em estudo realizado em ovinos por Eckery e colaboradores em 1994, após uma hipofisectomia, foi observado que havia dependência dos folículos em relação aos hormônios produzidos por essa estrutura. Dessa forma, com a remoção da hipófise, foi observado atresia folicular e a interrupção de uma nova onda de crescimento dos folículos. O desenvolvimento folicular foi retomado somente após a administração exógena de gonadotrofinas e GH.

Por meio de testes de cultura *in vitro*, (Spicer e Stewart, 1996; Stewart *et al.*, 1996) destacou-se que o IGF-1 aumenta o número de sítios de ligação de LH, assim como a produção de P4 e androstenediona pelas células da teca, estimulada pelo LH. Dessa

forma, mostrando o potencial do IGF-1 para aumentar a resposta das células foliculares frente ao LH, este poderia atuar de forma indireta elevando o estrógeno plasmático, que é essencial para o fenômeno da ovulação.

Através de um estudo realizado por Cooke e colegas pesquisadores (2013), a fim de avaliar os efeitos do IGF-1 e leptina na puberdade de novilhas *Bos Taurus*, realizando a aplicação de RBST, observou-se que as novilhas com os níveis de IGF-1 maiores alcançaram a fase de puberdade mais rapidamente, independente de outros fatores externos.

2.9 TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÃO EM TEMPO FIXO (TETF)

Atualmente, a transferência de embrião é uma das biotecnologias da reprodução mais bem difundidas e aplicadas na pecuária (Hasler, 2003), sendo o Brasil, o país referência mundial dessa biotécnica (Viana & Camargo, 2007). No entanto, taxa de gestação das receptoras ainda é um dos grandes gargalos da técnica, devido à relação entre o embrião e o ambiente intrauterino no momento da inovulação (Spell et al., 2001). Dessa forma, o custo se eleva, e em alguns casos onde o resultado não é positivo, pode levar prejuízos ao produtor (Fernandes, 1999).

Para que o procedimento seja efetuado, é necessária uma receptora previamente examinada, para que seja fim de identificar se apresenta corpo lúteo (Leal et al., 2009). Caso a receptora esteja apta, é realizada a inserção do aplicador pelo canal da vagina, passando pela cérvix até o corno uterino, e após essa que é onde o embrião será depositado (Jainudeen et al., 2004).

Algumas intempéries apresentadas no momento da inovulação podem dificultar a implantação da técnica. A presença de animais cíclicos e enovelamento cornual do útero são exemplos desses percalços (Diaz, 1988; Cutini et al., 2000;). Dessa forma, o operador da técnica deve estar atento a todas as dificuldades e estabelecer métodos que visam o aumento a taxa de prenhez e obtenha sucesso (Sreenan & Diskin, 1987; Jltá,1995; Fernandes, 1999).

Atualmente, há uma crescente associação entre a técnica de transferência de embrião e a utilização de protocolos hormonais, que é denominada transferência de embrião em tempo fixo (TETF). Logo, o objetivo é manipular o ciclo estral das fêmeas para

que no momento da inovulação as receptoras apresentem corpo lúteo e estejam viáveis para a implantação do embrião. Ribeiro, em seu trabalho em 2011, utilizou no D0 implante de progesterona intravaginal, juntamente com 2mg de Benzoato de estradiol por via intramuscular. No Dia 5, os animais receberam 300U.I de Gonadotrofina Coriônica equina (eCG), e 500µg de Cloprostenol, ambos por via intramuscular. Ao oitavo dia do protocolo, os dispositivos intravaginais foram removidos, e em seguida, aplicado 1mg de Benzoato de estradiol. Todas as receptoras foram avaliadas no dia 17, e os animais que apresentavam corpo lúteo foram inovulados por meio da transferência de embrião.

3 JUSTIFICATIVA

A puberdade é um importante marcador fisiológico que evidencia o início da atividade reprodutiva da fêmea bovina. Dessa forma, protocolos de indução deste período são fundamentais para tornar a fêmea produtivamente mais precoce, aumentando os lucros da produção. Por conseguinte, torna-se necessário a avaliação de novas técnicas e protocolos de indução estral em novilhas pré-puberes.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a inclusão da somatotropina bovina recombinante (RBST) em protocolos de indução de puberdade em novilhas da raça Girolando.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Se existe efetividade na adição da RBST em protocolos de indução de novilhas;
- Comparar protocolos indutores já existentes com o protocolo proposto.

5 ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo Original

O USO DA SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (RBST) NA INDUÇÃO DE PUBERDADE DE NOVILHAS DA RAÇA GIROLANDO

PITTELKOW, M. A¹., LIMA, A. L. N¹. OLIVEIRA, J. V. M. ¹, GOEHRINGER, K. M. ², ALVES, S. R. ³

¹*Graduando de Medicina Veterinária, Escola Superior São Francisco de Assis - ESFA, Santa Teresa, Brasil*

²*Docente do Curso de Medicina Veterinária, Escola Superior São Francisco de Assis - ESFA, Santa Teresa, Brasil*

³*Docente do Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário de Viçosa - UNIVIÇOSA, Viçosa, Brasil*

RESUMO

O setor agropecuário no Brasil cresce cada vez mais, acompanhado de uma bovinocultura estruturada e que sustenta milhares de pessoas. É imprescindível que o número de animais cresça, para que os índices reprodutivos resultem em lucratividade na cadeia produtiva. Sendo assim, antecipar a idade com que estes animais entrem em puberdade e comecem sua vida produtiva, pode resultar em maior progressão do rebanho. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do uso da somatotropina bovina recombinante em protocolo de indução de puberdade de novilhas da raça girolando. O experimento foi realizado na zona rural da cidade de Montanha, localizada no estado do Espírito Santo, Brasil. Foram utilizados 40 animais, novilhas girolando, ½ sangue, com peso médio de 300 Kg e Escore de Condição Corporal (ECC) de 3. Os animais foram divididos em 4 grupos compostos por 10 animais cada. O primeiro grupo não recebeu tratamento hormonal, o segundo foi tratado somente com progesterona injetável, o terceiro grupo contou com a aplicação de progesterona associada ao cipionato de estradiol, e no último grupo foi realizada a aplicação de progesterona, cipionato de estradiol e somatotropina bovina recombinante. Os resultados evidenciaram que o grupo em que as novilhas receberam o incremento da somatotropina bovina recombinante, obtiveram melhores resultados na resposta à indução. Por fim, no protocolo de transferência de embrião em tempo fixo, evidenciou também neste grupo maior tonicidade uterina e taxa prenhez.

Palavras-chave: Indução; puberdade; somatotropina; embrião.

ABSTRACT

The agricultural sector in Brazil is growing more and more, accompanied by structured cattle farming that supports thousands of people. Given this, it is essential that the number of animals increases, so that reproductive rates result in profitability in the production chain. Therefore, anticipating the age at which these animals enter puberty and begin their productive lives earlier can result in greater herd progression. The present work aimed to evaluate the effects of using recombinant bovine somatotropin in a puberty induction protocol and compare it with other existing protocols. The experiment was carried out in the rural area of the city of Montanha, located in the state of Espírito Santo, Brazil. 40 animals were used, heifers growing $\frac{1}{2}$ blood, with an average weight of 300 kg and a Body Condition Score (BCS) of 3/5. The animals were divided into 4 equal groups, in which the first group did not receive hormonal treatment, the second group was treated only with injectable progesterone, the third group had the application of progesterone associated with estradiol cypionate, and the remaining group was Progesterone, estradiol cypionate and recombinant bovine somatotropin were administered. Based on the results, it was noted that the group in which the heifers received the increase in recombinant bovine somatotropin obtained better results in response to induction. Finally, in the fixed-time embryo transfer protocol, this group also showed greater uterine tone and pregnancy rate.

Keywords: Induction; puberty; somatotropin; embryo.

Introdução

No Brasil, o primeiro trimestre do ano de 2023 foi marcado por um crescimento de 1,9% no Produto Interno Bruto (PIB) do país segundo estatísticas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE). Este feito só foi possível graças ao setor agropecuário, que é responsável por 8% de toda economia do país, e cresceu 21% durante os três primeiros meses do ano. A bovinocultura, tanto corte como leite, compõem parte deste resultado, e para que estes números continuem a crescer, é necessário que a quantidade de bezerros nascidos também aumente, a fim de garantir a manutenção da taxa de reposição de todo o gado (Silva *et al.*, 2019).

Dessa forma, a fase de recria merece atenção especial, coordenação e gestão para garantir os lucros da atividade leiteira, porém muitas vezes é negligenciada por ser um investimento de retorno tardio (Hoffman e Funk, 1992). Um dos grandes problemas desta fase está na puberdade tardia e idade do primeiro parto das novilhas (Ferreira *et al.*, 2012). Assim, antecipar a idade com que estes animais entrem em puberdade pode revelar um maior número de bezerros, além de maior longevidade reprodutiva da fêmea (Cardoso *et al.*, 2007).

Protocolos hormonais de indução de puberdade têm sido amplamente empregados com a finalidade de melhorar índices reprodutivos do rebanho, antecipando a entrada de novilhas no período reprodutivo (Santos *et al.*, 2018). Para efetivar esta estratégia, a progesterona (P4), seja por dispositivo intravaginal ou injetável, e o estrógeno (E2) estão sendo vastamente utilizados como método de indução da onda folicular (Bó *et al.*, 2018; Santos *et al.*, 2018).

Além disso, Ribeiro e colaboradores. relataram no ano de 2020 o emprego da Somatotropina bovina recombinante (RBST) na produção *in vivo* e na maturação *in vitro* de oócitos bovinos da raça Sindí, que evidenciou resultados positivos quanto ao emprego do fármaco, obtendo maior porcentagem de folículos grandes e oócitos viáveis *in vitro*. Logo, o emprego do RBST na indução de puberdade de novilhas girolando também poderá apresentar resultados satisfatórios.

Dessa forma, é imprescindível estudos observando o emprego da Somatotropina Bovina Recombinante (RBST), adjunto a outros hormônios sintéticos com objetivo de estimular a puberdade em novilhas da raça Girolando.

Material e métodos

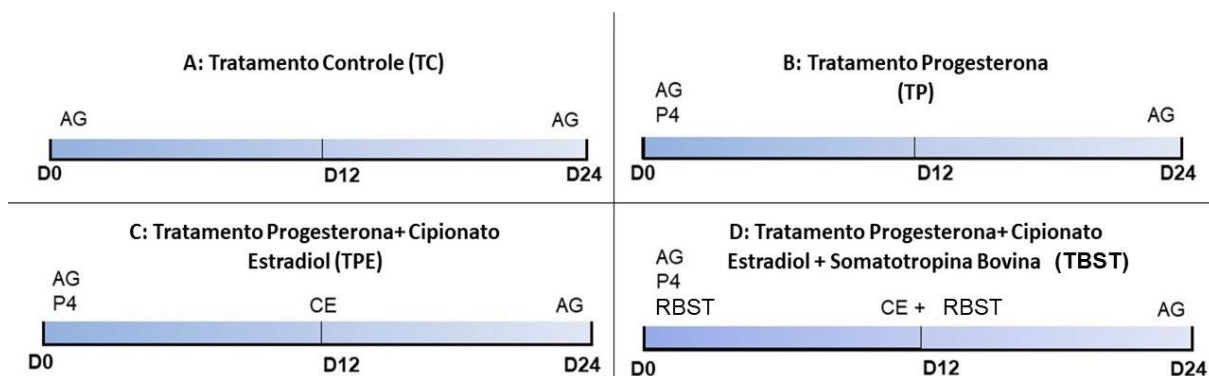
O experimento foi realizado na zona rural da cidade de Montanha, localizada no estado do Espírito Santo, Brasil (18°10'47.0"S 40°22'03.9"W). Foram utilizados 40 animais, novilhas girolando ½ sangue, com peso médio de 300 Kg e Escore de Condição Corporal (ECC) de 3, segundo a classificação de Lowman *et al.*, (1976). Todos os animais são criados em sistema extensivo e foram submetidos ao mesmo manejo nutricional, em pasto de *Brachiaria brizantha*, fornecimento de concentrado a base de farelo de milho (2kg/animal/dia), sal mineral no cocho e água limpa *ad libitum*.

O delineamento experimental será inteiramente casualizado (DIC), em que animais serão divididos em 4 tratamentos, cada um composto por 10 animais: Tratamento Controle (TC), Tratamento Progesterona (TP), Tratamento Progesterona + Cipionato Estradiol (TPE) e por fim, Tratamento Progesterona + Cipionato Estradiol + somatotropina bovina (TBST).

Todos os protocolos tiveram duração de 25 dias, iniciando no dia 0 (D0), e findando no dia 24 (D24). Ambos D0 e D24 contaram com avaliação ginecológica com auxílio de um aparelho ultrassonográfico (Mindray® DP 10) a fim de comparar a relevância científica de cada tratamento.

O TC foi composto apenas por uma avaliação ginecológica no D0, início do protocolo, e uma no D24, fim do protocolo de indução. Já o tratamento progesterona (TP), além das avaliações ginecológicas no D0 e D24, foi incluso no primeiro manejo a aplicação de 1 ml de P4 injetável, por via intramuscular (Sincrogest® 150mg/ml – Ourofino).

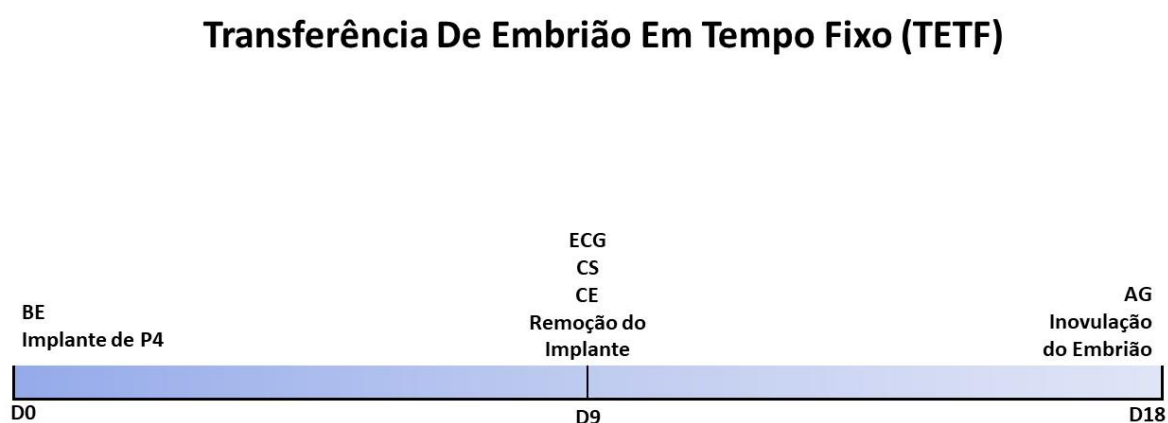
O TPE foi executado de forma semelhante ao TP, todavia, ao dia 12 (D12) ocorreu a aplicação de 0,4 ml de Cipionato Estradiol (CE) (E.C.P.® 2mg/ml – Zoetis), por via intramuscular, em todos os animais pertencentes a este grupo. Por fim, o quarto tratamento ou TBST se diferenciará do TPE pela aplicação de 1 seringa de RBST (Posilac® 325mg – Agener) por via subcutânea tanto no D0 como no D12. Os manejos referentes a cada grupo foram exemplificados conforme a Figura 3.

Figura 3 – Delineamento Experimental.

AG = Avaliação Ginecológica; CE = Cipionato Estradiol; P4 = Progesterona; RBST = Somatotropina Bovina Recombinante. A: Tratamento Controle (TC); B: Tratamento Progesterona (TP); C: Tratamento Progesterona + Cipionato Estradiol (TPE); D: Tratamento Progesterona + Cipionato Estradiol + somatotropina bovina (TRBST).

A avaliação ginecológica do D24 visou identificar animais que após o protocolo de indução de puberdade apresentaram resposta ao mesmo. Logo, apenas animais que evidenciaram presença de Corpo Lúteo foram considerados como responsivos ao protocolo.

Todos os animais que apresentaram resposta foram submetidos a transferência de embriões em tempo fixo (TETF). Dessa forma, o número de animais protocolados por grupo variou conforme a eficiência da taxa de resposta que apresentaram. O protocolo de TETF foi realizado em um período de 19 dias, subdividido em 3 manejos, sendo eles o D0, D9 (Dia 9) e D18 (Dia 18), conforme o esquema representado na figura 4.

Figura 4 - Protocolo de Transferência de Embrião em Tempo Fixo (TETF).

Transferência De Embrião Em Tempo Fixo (TETF)

No D0, utilizou-se 2 mg de Benzoato de Estradiol (BE) (Ric BE - Agener®) e procedeu-se com a aplicação de um dispositivo intravaginal de progesterona multidoso (Primer Multidoso - Agener®), de segundo uso, em todos os animais. No D9, foi feita a remoção do implante progestágeno e administrado 400 UI (Unidades internacionais) de Gonadotrofina Coriônica Equina (ECG) (SincroECG - Ourofino®), 0,5 mg de Cloprostenol Sódico (CS) (Estron- Agener®) e 1 mg de Cipionato de Estradiol (Cipiotec – Agener®). No D18, fim do protocolo de transferência, através da ultrassonografia transretal, todos os animais foram avaliados individualmente, executando a inovulação dos embriões.

O diagnóstico gestacional dos animais inovulados ocorreu em duas etapas. A primeira etapa transcorreu após 22 dias da inovulação do embrião. O diagnóstico gestacional definitivo, ou segunda etapa, ocorreu após 60 dias do procedimento. O diagnóstico gestacional foi feito por ultrassonografia transretal (DP-50 Color Power Doppler - Mindray®).

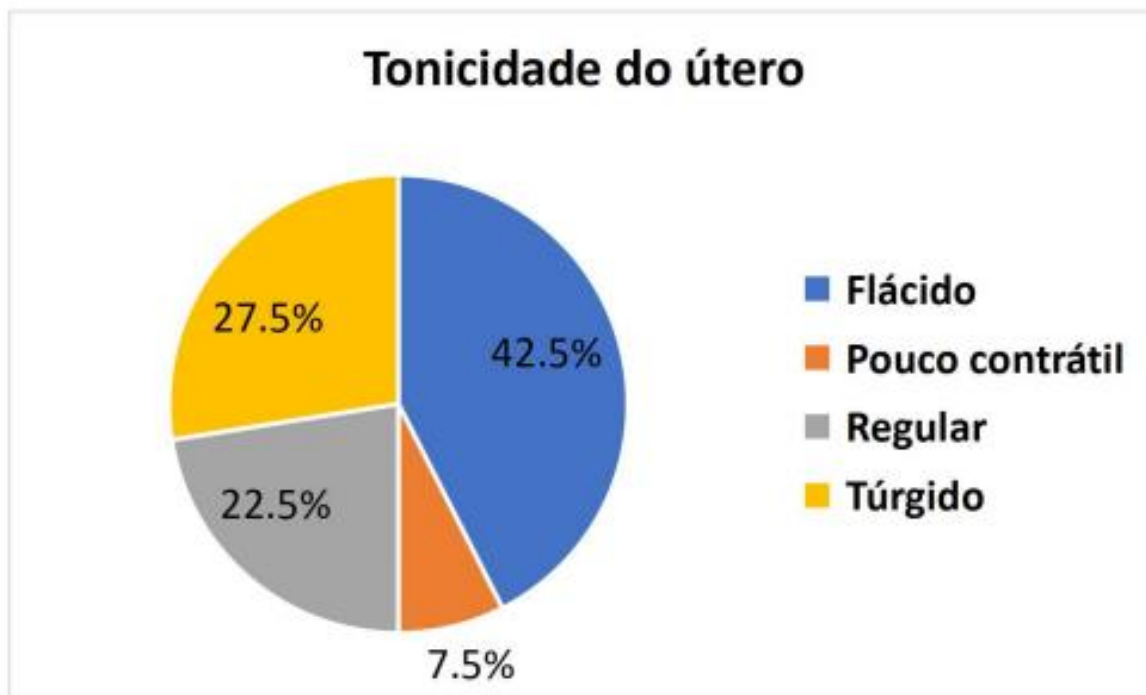
Para este estudo, foi realizada uma análise estatística abrangente empregando a obtenção de frequências absolutas e relativas, teste exato de Fisher para associações entre variáveis categóricas, correções múltiplas com Bonferroni para controlar o erro tipo I, construção de tabelas de contingência para visualizar relações, cálculo de probabilidades condicionais e aplicação da Regra de Bayes para entender a dependência entre variáveis, e utilização dos softwares estatísticos R® e JAMOV®. Foi utilizado um nível de significância de 5%, permitindo explorar eficazmente a relação entre variáveis categóricas do conjunto de dados.

Resultados

Segundo o delineamento experimental, 40 animais correspondem a amostra, ou seja 100%. Estes animais foram alocados aleatoriamente em 4 grupos, cada um composto de 10 animais. Dessa forma, cada tratamento representa 25% da amostra.

Após a avaliação ginecológica realizada no D0, foi constatado que, segundo a tonicidade uterina, 17 animais (42,5%) possuíam o útero flácido, 11 (27,5%) túrgido, 9 (22,5%) Regular e 3 (7,5%) pouco retrátil, conforme está evidenciado no gráfico da figura 5.

Figura 5 – Tonicidade uterina.



Considerando o número amostral, apenas 25 animais (62,5%) obtiveram resposta ao seu respectivo tratamento. Ao fim do estudo, 18 animais obtiveram prenhez, representando 72% dos 25 animais com resposta ao tratamento, e 45% dos 40 animais que iniciaram o estudo. Veja as figuras 6 e 7.

Figura 6 – Taxa de resposta.

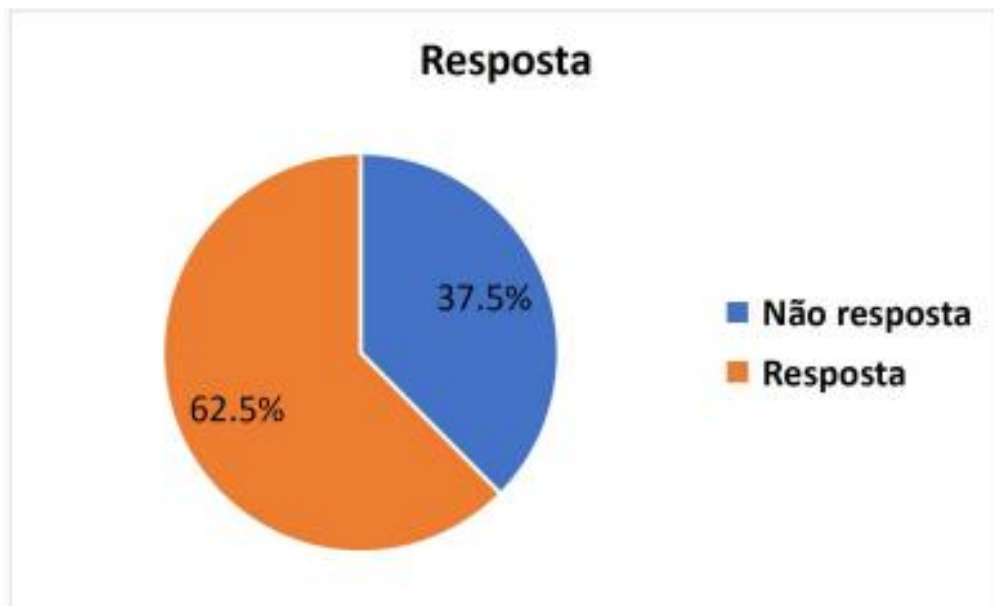
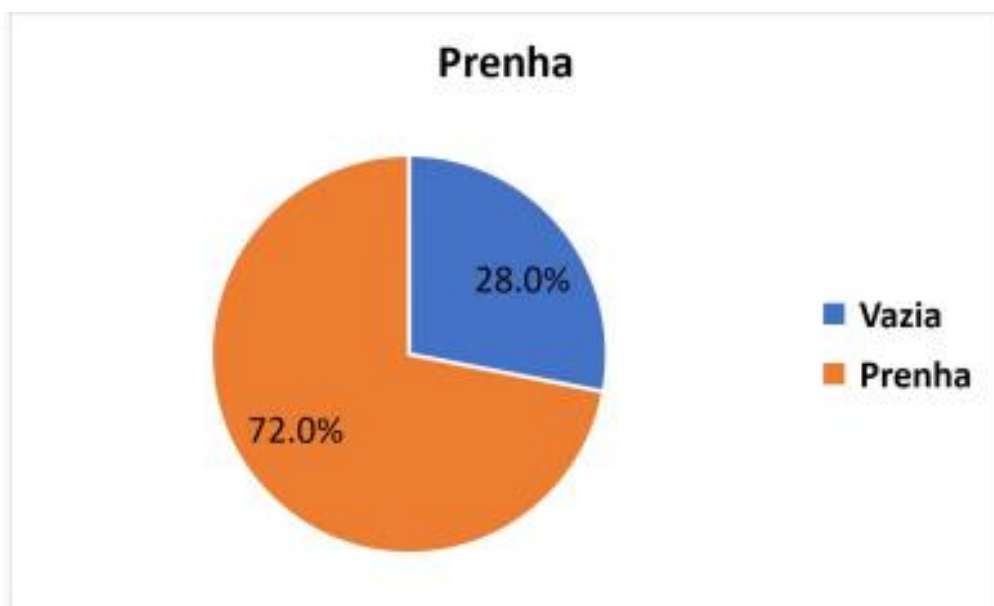


Figura 7 – Taxa de prenhez.



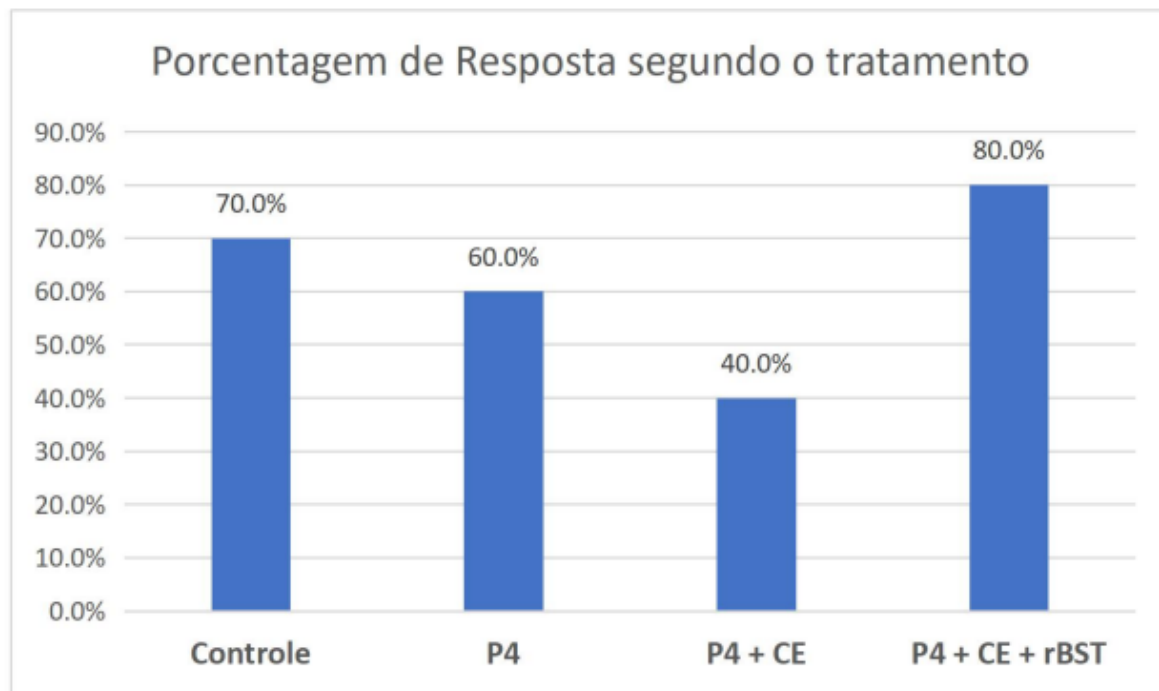
Frequências relativas da amostra e entre os grupos foram calculadas e exemplificadas conforme mostra a tabela 1, levando em consideração a resposta ao tratamento, tonicidade do uterina e prenhez.

Tabela 1 – Comparação entre grupos.

		Total		Controle			P4			P4 + CE			P4 + CE + rBST			X2	p-val
		n	% col	n	% lin	% col	n	% lin	% col	n	% lin	% col	n	% lin	% col		
RESPOSTA	Não resposta	15	37,5%	3	20,0%	30,0%	4	26,7%	40,0%	6	40,0%	60,0%	2	13,3%	20,0%	3,73	0,375
	Resposta	25	62,5%	7	28,0%	70,0%	6	24,0%	60,0%	4	16,0%	40,0%	8	32,0%	80,0%		
TONICIDADE	Flácido	17	42,5%	6	35,3%	60,0%	3	17,6%	30,0%	6	35,3%	60,0%	2	11,8%	20,0%	16,89	0,069
	Pouco contrátil	3	7,5%	1	33,3%	10,0%	2	66,7%	20,0%	0	0,0%	0,0%	0	0,0%	0,0%		
	Regular	9	22,5%	2	22,2%	20,0%	3	33,3%	30,0%	3	33,3%	30,0%	1	11,1%	10,0%		
	Túrgido	11	27,5%	1	9,1%	10,0%	2	18,2%	20,0%	1	9,1%	10,0%	7	63,6%	70,0%		
DIAGNÓSTICO GESTACIONAL	Vazia	7	28,0%	2	28,6%	28,6%	1	14,3%	16,7%	4	57,1%	100,0%	0	0,0%	0,0%	13,78	0,002
	Prenha	18	72,0%	5	27,8%	71,4%	5	27,8%	83,3%	0	0,0%	0,0%	8	44,4%	100,0%		

Nota. Teste Exato de Fisher

Mesmo que mais da metade da amostra (62,5%) tenha exibido resposta ao tratamento, o número não é muito elevado. Isso quer dizer que o resultado não é suficiente para comparação entre os grupos. Verificou-se que a resposta não está associada significativamente tratamento recebido pelo animal ($X^2 = 3,73$; $p = 0,375$) (Tabela 1), ou seja, não há diferenças significativas nas proporções de resposta entre os 4 grupos, veja Figura 8.

Figura 8 – Proporção de Resposta dado o grupo de tratamento.

Mesmo não significativo, observou-se na amostra que o grupo de animais que recebeu P4+CE+RBST obteve uma taxa de resposta maior que os outros (80%), todavia muito

similar ao grupo Controle (70%). O grupo P4+CE foi o que obteve a menor taxa de resposta (40%).

Para estudar a associação entre a resposta, tonicidade uterina e o tratamento ao qual os animais foram submetidos, tabelas de contingência foram criadas para estas três variáveis, considerando cada uma das características avaliadas, os resultados mostram que há uma associação significativa entre estas três variáveis ($\chi^2 = 18,3$; $p = 0,026$):

- R = Resposta ao tratamento;
- T = Tonicidade do útero;
- G = Grupo de tratamento.

As seguintes tabelas salientam a quantidade de animais conforme o grau de tonicidade uterina para cada grupo, Tabela 2 (TxG); e a quantidade de animais que obtiveram resposta segundo a tonicidade e o tratamento submetido, Tabela 3 (RxTxG).

Tabela 2 - Número de animais segundo a tonicidade e grupo de tratamento.

	Tonicidade do útero				Total
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido	
Controle	6	1	2	1	10
P4	3	2	3	2	10
P4 + CE	6	0	3	1	10
P4 + CE + rBST	2	0	1	7	10

Tabela 3 - Frequência de resposta segundo a tonicidade e tratamento.

Contagem de Resposta	Tonicidade do útero				Total
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido	
Controle	3	1	2	1	7
P4	0	1	3	2	6
P4 + CE	0	0	3	1	4
P4 + CE + rBST	0	0	1	7	8

As tabelas 2 e 3 devem ser interpretadas em conjunto. A primeira tabela apenas indica a tonicidade que cada animal apresentou ao fim do estudo, segundo o tratamento em que o animal foi inserido. Já a tabela 3, evidencia quantos animais, de acordo com a tonicidade uterina que apresentaram ao fim do experimento (Tabela 2), obtiveram resposta. Por exemplo, 6 animais do grupo controle (linha controle, tabela 2) apresentaram útero flácido ao final do estudo (coluna flácido, tabela 2). Dos animais do grupo controle com útero flácido (linha controle, tabela 2), ao final do estudo, 3 alcançaram resposta ao tratamento (coluna flácido, tabela 3).

Através destas tabelas foi possível calcular dois tipos de probabilidade condicional:

1. $P(R|T \cap G)$: Probabilidade de ter resposta dados a tonicidade final do animal e o grupo;
2. $P(R \cap T|G)$: Probabilidade de ter resposta com determinada tonicidade do útero dado o grupo.

A Regra de Bayes aplicada nestas duas situações permite calcular ambas probabilidades:

- $P(R|T \cap G) = P(R \cap T \cap G)/P(T \cap G)$;
- $P(R \cap T|G) = P(R \cap T \cap G)/P(G)$.

Para cada um dos 4 tipos de úteros e cada um dos 4 tratamentos, a probabilidade $P(R|T \cap G)$ de obter resposta dado o tipo de útero e o grupo do animal é (Tabela 4):

Tabela 4 - Probabilidade de resposta dada a tonicidade do útero e o grupo de intervenção.

$P(R T \cap G)$	TONICIDADE			
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido
Controle	50%	100%	100%	100%
P4	0%	50%	100%	100%
P4 + CE	0%	0%	100%	100%
P4 + CE + rBST	0%	0%	100%	100%

Através da tabela 4 é possível concluir que animais com útero regular a túrgido obtém uma probabilidade de 100% de obtenção de resposta para todos os grupos. Isto evidencia a diferença da probabilidade de resposta quando os animais apresentam o útero flácido daqueles com boa tonicidade. Independente do tratamento que o animal está inserido, a tonicidade alta e regular estará sempre associada a obtenção de resposta ($X^2 = 26,6$; $p < 0,001$). Por outro lado, úteros com tonicidade flácido e pouco contrátil, de maneira geral, não exibiram resposta em praticamente todos os tratamentos.

A probabilidade de resposta segundo a tonicidade uterina e o tratamento no qual animal foi inserido, está representada na tabela 5.

Tabela 5 - Probabilidade de resposta conforme a tonicidade do útero, dado o grupo de intervenção.

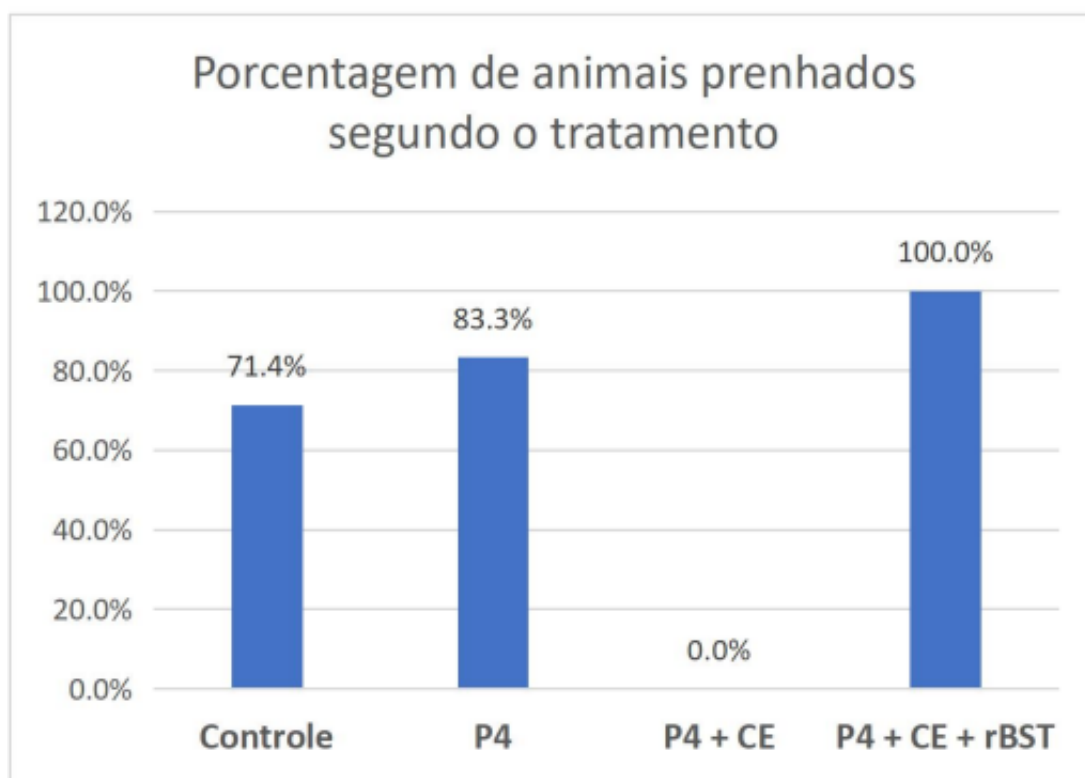
P(R∩T G)	Tonicidade do útero				
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido	Total
Controle	30,0%	10,0%	20,0%	10,0%	70,0%
P4	0,0%	10,0%	30,0%	20,0%	60,0%
P4 + CE	0,0%	0,0%	30,0%	10,0%	40,0%
P4 + CE + rBST	0,0%	0,0%	10,0%	70,0%	80,0%

Analisando esta tabela, é possível perceber que a probabilidade de um animal do grupo P4+CE+rBST apresentar útero túrgido e resposta é de 70%, representando o número mais elevado entre os grupos, e o único acima de 50%. Logo, destaca-se o que este grupo reúne uma alta probabilidade de alcançar turgidez uterina e resposta ao mesmo tempo. Novamente observa-se que vemos o resultado referente resposta e tonicidade uterina flácida e pouco contrátil não é frequente em grupos que receberam o tratamento P4+CE+rBST.

Ao analisar a taxa de prenhez, é possível perceber que dos animais que foram submetidos a TETF, 72% da amostra obteve resposta positiva, desenvolvendo a gestação. Constatou-se que todos os grupos, exceto P4+CE, tiveram uma taxa significativamente elevada de animais prenhes ($X^2 = 13,8$; $p = 0,002$), destacando o

grupo P4+CE+rBST, já que todos os animais deste grupo tiveram condições para necessárias para engravidar, todos obtiveram diagnóstico gestacional positivo, veja a Figura 9.

Figura 9 – Proporção de animais que ficaram prenhes segundo o tratamento.



Não obstante, as taxas de animais prenhes nos grupos Controle, P4 e P4+CE+rBST não apresentaram diferença significativa entre eles ($p > 0,05$), existindo apenas diferença significativa entre os grupos P4+CE e P4+CE+rBST ($p = 0,023$).

Para estudar a associação entre a prenhez, tonicidade do útero e o tratamento, foram construídas tabelas de contingência para estas três variáveis, considerando cada uma das características avaliadas. Os resultados mostram que não há uma associação significativa entre estas variáveis ($\chi^2 = 10,2$; $p = 0,068$). Nesta análise foi considerado que nenhum animal do grupo P4+CE foi apto para engravidar. A amostra de animais a considerar para engravidar são aqueles que revelaram resposta ao final D24. Seja:

- P = Prenha;

- R = Resposta;
- T = Tonicidade do útero;
- G = Grupo de tratamento.

A seguinte tabela mostra a quantidade de animais que tiveram resposta e ficou prenhe em cada categoria, segundo a tonicidade e o tratamento ao qual o animal foi inserido, Tabela 6 (PxRxTxG).

Tabela 6 – Taxa de resposta X Prenhez

GRUPO	TONICIDADE				Total
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido	
Controle	1	1	2	1	5
P4	0	0	3	2	5
P4 + CE	0	0	0	0	0
P4 + CE + rBST	0	0	1	7	8

Através desta tabela foi possível calcular a probabilidade condicional de interesse:

1. $P(P|R \cap T \cap G)$: Probabilidade de um animal ficar prenha dado que teve resposta comum a determinada tonicidade do útero e o grupo de intervenção que foi alocado;
2. $P(P \cap R \cap T|G)$: Probabilidade dados o grupo da intervenção do animal desenvolver uma determinada tonicidade, ter resposta e ficar prenhe.

A Regra de Bayes aplicada nestas duas situações permite calcular ambas probabilidades:

- $P(P|R \cap T \cap G) = P(P \cap R \cap T \cap G) / P(R \cap T \cap G)$;
- $P(P \cap R \cap T|G) = P(P \cap R \cap T \cap G) / P(G)$.

Animais que apresentaram resposta, e cada um dos 4 tipos de turgidez uterina, tem-se que a probabilidade $P(P|R \cap T \cap G)$ do animal é:

Tabela 7 - Probabilidade de prenhez dado a tonicidade do útero e o grupo de intervenção.

$P(P R \cap T \cap G)$	TONICIDADE				
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido	Total
Controle	33%	100%	100%	100%	71%
P4	0%	0%	100%	100%	83%
P4 + CE	0%	0%	0%	0%	0%
P4 + CE + rBST	0%	0%	100%	100%	100%

A tabela 7 ressalta que ambos grupos P4 e P4+CE+rBST promovem prenhez desde que exibam resposta e tonicidade uterina regular ou túrgido. No entanto, o grupo P4+CE+rBST é o que atinge uma maior taxa de prenhez.

A seguinte Tabela (Tabela 8) mostra a probabilidade de um animal ficar prenhe quando obteve resposta com determinada tonicidade uterina, dado o grupo do animal.

Tabela 8 - Probabilidade de um animal ficar prenhe segundo a resposta, determinada tonicidade uterina, e o grupo do animal.

$P(P \cap R \cap T G)$	Tonicidade do útero				
	Flácido	Pouco contrátil	Regular	Túrgido	Total
Controle	10,0%	10,0%	20,0%	10,0%	50,0%
P4	0,0%	0,0%	30,0%	20,0%	50,0%
P4 + CE	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%	0,0%
P4 + CE + rBST	0,0%	0,0%	10,0%	70,0%	80,0%

Note que a probabilidade de um animal do grupo P4+CE+rBST ter útero túrgido, resposta e ficar prenhe é de 70%, que é a mais elevada e a única acima de 50%, o que destaca o fato de que este grupo tem uma alta probabilidade de que os animais apresentem turgidez, resposta e prenhez.

Discussão

Araújo e colegas pesquisadores (2019) definem que a puberdade é um evento fisiológico que evidencia o início da atividade reprodutiva da fêmea, em que há a primeira ovulação viável, formação do corpo lúteo e manifestação de cio. Seguindo esta lógica, conforme o estudo realizado, durante a avaliação inicial realizada no D0 toda a amostra encontrava-se em anestro (Tabela 9), ou seja, ainda encontravam-se em fase pré- púbere.

Tabela 9 – Avaliação ginecológica inicial das fêmeas.

GRUPOS	ANESTRO	CICLÍCAS
Controle	10	0
P4	10	0
P4+CE	10	0
P4+CE+rBST	10	0

Uma forma mais específica de avaliar o início da ciclicidade das fêmeas foi descrito por Jones *et al.* em 1991, que definiu que a puberdade é marcada pelo primeiro dia em que a fêmea apresentará concentração plasmática de P4 superior a 1ng/ml. Todavia, o presente estudo não levou em consideração as concentrações plasmáticas de P4, sendo avaliada a puberdade apenas pelos quesitos descritos por Araújo *et al.* (2019).

McDonald (2003) também realizou estudos voltados para a puberdade de fêmeas bovinas. Ele descreve que a puberdade é um processo que inicia-se antes do nascimento e continua durante todo período pré e peripuberal. Desde o início da vida da fêmea, o eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Gonadal (HHG) é funcional, entretanto o estrógeno exerce inicialmente um efeito inibitório sobre o hipotálamo, impedindo a que haja a liberação do Hormônio Liberador De Gonadotrofinas (GnRH) e posterior liberação do Hormônio Luteinizante (LH) e do Hormônio Folículo Estimulante (FSH).

Ainda que não chegue de fato a puberdade ou que leve algum tempo para que isso aconteça, os animais com altas concentrações de estrógeno permanecerão em

anestro, mediante ao seu efeito inibitório sobre o hipotálamo, não permitindo o desencadeamento de eventos que irão culminar com a ovulação (Atkins *et al.*, 2013).

A fim de contornar isto, protocolos de indução de puberdade estão cada vez mais sendo empregados nas propriedades, visando ampliar os índices produtivos e reprodutivos. Não obstante, a efetividade destes tratamentos apresentará resultados satisfatórios apenas quando o animal já estiver próximo de alcançar a puberdade (Guerreiro, 2009; Chaves, 2019).

Protocolos de indução de puberdade utilizando apenas P4, ou a associando a uma fonte estrogênica são amplamente descritos na literatura. Antunes e Primieri (2020), realizaram um estudo utilizando P4 injetável visando induzir a puberdade de novilhas. O experimento foi conduzido com 64 animais, divididos em dois grupos: 32 animais receberam a progesterona, e a outra metade não se utilizou de ferramentas para indução. Após 24 dias, todos os animais foram submetidos a um protocolo hormonal prévio a inseminação artificial em tempo fixo, que ocorreu 10 dias depois. Ao fim do estudo 56% dos animais do grupo induzido apresentaram prenhez, em contrapartida, o grupo controle obteve 50% de confirmações.

Antunes e Primieri (2020) não avaliaram índice de resposta, o que compromete os resultados finais acerca da técnica, uma vez que os animais podem ter obtido resposta ao tratamento, porém, ao fim do estudo, não exibirem prenhez, já que tanto a TETF quanto a IATF estão sujeitas a erros no descongelamento do sêmen, armazenamento do embrião ou na execução, como descrito por Freitas (2022).

O presente estudo avaliou a taxa de resposta e prenhez dos animais dos diferentes grupos. Para o TP, a taxa de resposta foi satisfatória, representando 60% dos animais. Ao comparar os resultados do TP e TC, é possível observar que animais que não receberam nenhum tipo de terapia hormonal indutora apresentaram resultados superiores a aqueles que receberam a aplicação de P4, quando observado apenas a taxa de resposta. Todavia, ao comparar a taxa de prenhez, animais induzidos exibiram maiores resultados (83,3%) do que aqueles pertencentes ao TC (71,4%).

Diversos são os fatores que podem atuar sobre o início do período púbere de novilhas. Barroso e colaboradores (2020) definem que as condições ligadas a puberdade envolvem genética, nutrição e sanidade.

Animais taurinos e zebuínos tendem a alcançar a puberdade em períodos diferentes (Rodrigues *et al.*, 2002). Novilhas *Bos taurus taurus* são geralmente mais precoces, atingindo período púbere entre 10 e 15 meses. Já animais *Bos taurus indicus*, são mais tardios, alcançando a puberdade de 22 e 36 meses (Santos; Sá Filho, 2006).

Um estudo realizado em 1959 por Sorensen e colaboradores, demonstrou que a puberdade não está associada a idade, e sim ao peso do animal. O National Research Council (NRC), em sua publicação de 1996, indica que animais Taurinos entram em período púbere com 60% do peso vivo corporal de um animal adulto, e zebuínos aos 65% do peso corporal final. Assim, é evidente que a nutrição é um fator primordial para anteceder o início da atividade reprodutiva de novilhas.

Animais jovens, cuja dieta é restrita a forragem, ocorre um menor desenvolvimento das papilas ruminais. Assim, incorporar grãos ou concentrados na alimentação destes animais assegura um crescimento eficiente (Bittar *et al.*, 2016). O FD é fundamental durante o ciclo estral da fêmea, e após a sua liberação, e posterior formação de CL, há produção de P4, que auxiliará durante todo processo gestacional. Logo, uma dieta restritiva pode diminuir a taxa de crescimento folicular e promover maior permanência do folículo no ovário (Diskin *et al.*, 2003; Fonseca, 2017).

Antunes e Primieri (2020) em seu experimento, utilizaram animais da raça nelore, *Bos taurus indicus*, em pasto de *Baracharia Brizantha*, não ofertando nenhuma fonte de concentrado. Isto pode explicar a diferença entre os resultados do presente estudo em relação ao de Antunes e Primieri. Apesar da amostra de Antunes e Primieri ser maior, os resultados para taxa prenhez, tanto do TC quanto TP, foram maiores em comparação aos resultados do grupo induzido com P4.

Ao comparar resultados de taxa de prenhez e taxa de resposta é possível concluir que uma boa nutrição, boa genética e manejo sanitário correto são suficientes para que os animais apresentem índices reprodutivos satisfatórios. Porém, é fato que o grupo induzido com P4 obteve menor taxa de resposta quando comparado com animais do TC, que não receberam nenhuma terapia hormonal prévia.

Segundo Macedo *et al.* (2011), um fator que pode afetar de forma direta a reprodução é o estresse. Em resposta a uma condição estressante ocorre a secreção hormonal de cortisol pela glândula adrenal, que irá inibir a liberação de gonadotrofinas pela

adenohipófise, impedindo que o pico de LH ocorra, podendo coibir também a ovulação e afetar a qualidade do embrião.

O estresse pode ser definido pelos ajustes exorbitantes que o animal promove em seu organismo, a fim compensar condições negativas de manejo e ambiente (Fraser et al., 1975). Em resposta aos fatores estressantes, há o desencadeamento de mecanismos que irão induzir a secreção do Hormônio Liberador de Corticotropina pelo hipotálamo, e consequentemente promovendo a secreção de corticotropina pela hipófise anterior (Kaneko *et al.*, 1997).

A corticotropina terá sua ação no córtex adrenal, que é responsável por sintetizar e liberar na corrente sanguínea os glicocorticóides. Logo, animais que receberem estímulos ao estresse, terão ativação do eixo hipotálamo-pituitário-adrenal, aumentando os níveis de cortisol e corticosterona (Kaneko et al., 1997).

Tais fatos relacionados ao estresse podem ter correlação com o percentual de resposta exibido pelos animais do TC, uma vez que foram levados ao curral poucas vezes e não foram submetidos a estímulos dolorosos por aplicação medicamentosa hormonal.

Para o presente estudo, o grupo TPE foi induzido utilizando a P4 injetável associada ao CE. Os resultados respectivamente, para taxa de resposta e prenhez, foram de 40% e 0%.

Um estudo realizado por Araújo e colaboradores (2019), utilizou como protocolo de indução de puberdade associação entre uma fonte progesterônica, dispositivo intravaginal de 4º uso, com uma estrogênica, o benzoato estradiol. Participaram do experimento 180 animais, e foram submetidas no D0 a aplicação do implante e do BE. No dia 8, o implante removido e novamente aplicado o BE. Após 12 dias os animais foram avaliados e classificados como cíclicos (82,22%) ou acíclicos (17,78%).

Os resultados encontrados por Araújo (2019) são bem diferentes dos obtidos através deste experimento, em que a taxa de resposta equivale a menos da metade do seu resultado. Lima (2017) afirma que animais só irão atingir a maturidade sexual após o terceiro ciclo estral, que é quando a fêmea apresentará um CL capaz de manter uma

gestação. Ou seja, apenas um ciclo de indução pode não ser o suficiente para que as novilhas se tornem aptas para gestar.

Em seu estudo, Silveira *et al.* (2020), afirma que a utilização em conjunto do Cipionato Estradiol com a progesterona é eficiente, e promove a indução de puberdade. Todavia, protocolos que utilizam apenas a progesterona também são eficientes, possuem menor custo, manejo e menos estresse. Ou seja, por se tratar de fêmeas jovens que ainda não estão acostumadas a serem manejadas no curral, poderão obter níveis elevados de cortisol, interferindo nos resultados do TPE.

O grupo TBST, em que os animais foram induzidos com progesterona injetável, Cipionato de Estradiol e Somatotropina bovina recombinante, evidenciou 80% de resposta ao tratamento. Segundo Saraiva e colaboradores (2010), o hormônio do crescimento possui participação ativa na dinâmica folicular e no desenvolvimento embrionário.

Lucy (2000), descreve que a RBST é uma substância que acarreta no aumento de receptores para o Fator De Crescimento Semelhante a Insulina 1 (IGF-1). O IGF-1, no sangue, atua de forma sinérgica com as gonadotrofinas LH e FSH, estimulando o crescimento folicular (Hammond *et al.*, 1991). Dessa forma, RBST promove aumento da quantidade de folículos na fase de recrutamento da onda folicular (Kirby, C.J.; Lucy, M.C; Smith, M.F., 1995).

Um estudo realizado por Cooke e colegas pesquisadores (2013), a fim de avaliar os efeitos do IGF-1 na puberdade de novilhas *Bos Taurus*, realizaram a aplicação de RBST e observaram que as novilhas com os níveis de IGF-1 maiores alcançaram a fase de puberdade mais rapidamente, independente de outros fatores externos. Logo, é factível perceber a influência do estresse sobre o TP e o TPE, e como mesmo animais do TBST tendo sido submetido a manejos semelhantes, ainda assim, apresentaram excelentes resultados para taxa de resposta e de prenhez.

Iza Dyar *et al.*, (1996) relata a utilização da RBST, verificando que durante a utilização do hormônio houve uma melhor maturação dos oócitos cultivados, culminando em um melhor embrião, ou seja, promove maior taxa de fertilização. A adição da RBST em culturas de células endometriais resultou na inibição da ciclogênase-2 e da produção de PGF_{2Y}, que possui ação luteolítica (Badinga *et al.*, 2000). Dessa forma, o embrião

tem suas chances de implantação no endométrio aumentadas, gerando melhora nos índices de sucesso da transferência de embrião.

Um estudo realizado por Moreira (2000) descreveu que o uso do RBST acarretou no aumento da taxa de embriões viáveis para a transferência e diminuiu o número de oócitos não fertilizados. Lucy *et al.*, (1993) propõe que a melhoria reprodutiva gerada pelo RBST ocorre mediante a sua ação direta nas células luteais, aumentando o peso do CL e consequentemente da produção de P4.

Outro fator importante a ser avaliado é a tonicidade uterina. Trata-se de um reflexo dos níveis de progesterona circulantes presentes, já que possui ação sobre a musculatura endometrial, reduzindo sua tonicidade (Bertan *et al.*, 2005; Lima & Souza, 2009). Diaz (1988) e Fernandes (1999) relataram que as melhores taxas de prenhez são observadas nos animais cujo o útero se encontra relaxado, consequente de maiores níveis de progesterona circulantes.

Ribeiro Filho e colaboradores (2011) realizaram um estudo utilizando 1.096 receptoras *Bos Taurus Indicus* da raça nelore, no qual foi avaliado a relação entre contratilidade uterina e taxa de prenhez. Os resultados obtidos diferiram do que foi relatado por Diaz e Fernandes. Tanto animais com úteros flácidos, regulares e turgidos apresentaram taxa de prenhez semelhantes.

Já o presente experimento obteve resultados discordantes daqueles encontrados por Ribeiro Filho, Diaz e Fernandes. Animais com o útero flácido e pouco contrátil apresentaram taxa de resposta e de prenhez insatisfatórios para todos tratamentos. Já aqueles que apresentaram útero regular a túrgido maior taxa de resposta e penhez. Animais pertencentes ao TBST evidenciaram com mais frequência o útero túrgido, ou seja, é evidente que a utilização do RBST promove aumento da circulação sanguínea. Outro ponto importante, conforme os dados estatísticos produzidos, existe sim uma relação positiva entre a contratilidade uterina sobre a taxa de prenhez dos animais.

Noakes (2001) refere que a turgidez ou aumento da circulação sanguínea uterina ocorre devido a elevados níveis de estrógeno. Ou seja, é uma característica que marca o estro. Dessa forma, animais que apresentam turgidez uterina marcante são animais cíclicos. Assim, as informações geradas Noakes condizem com aquelas relatadas por Diaz e Fernandes. Nessa lógica, úteros flácidos são o resultado de altas concentrações de P4 circulantes, e úteros tônicos, de altas concentrações de

estrógeno. Todavia ambos resultados obtidos no presente trabalho e no elaborado por Ribeiro Filho, contrapõe esta informação.

Ainda não há dados em literatura que expliquem os resultados aqui obtidos. Porém, trata-se de um tema com alta relevância para o avanço de novas tecnologias da reprodução na bovinocultura.

Considerações Finais

A taxa de resposta e de prenhez dos animais foi maior naqueles que apresentaram úteros com tonicidade regular e alta. É muito provável que animais que receberam o RBST desenvolva útero turgido e fique prenhe. Animais cujo o tratamento utilizou apenas P4 e CE evidenciaram os piores resultados para taxa de resposta e de prenhez. Ao fim do experimento, nenhum animal do TPE obteve resultados positivos para prenhez.

Referências

Antunes, M. F e Primieri, C. Indução de puberdade em novilhas com a utilização de progesterona injetável. Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG v. 3 n. 2, 2020.

Araújo, A. C. C., Nonato, M. S., Bezerra, A. R. A., Murta, D. C. R. X., Murta, D. V. F., Santos, J. M. L., Souza, R. B. de, & Carneiro, J. A. M. (2019). Efeito indução da ovulação em novilhas com protocolo de ciclicidade / Induction of ovulation in heifers with memorandum of cyclicity. Brazilian Journal of Development, 5(11), 24286–24290.

Atkins J. A, Pohler K. G., Smith M. F. Physiology and endocrinology of puberty in heifers. 2013, citado por PATTERSON, D. J; SMITH, M. F. (editor) Veterinary clinics of North America: food animal practice. Management considerations in beef heifer development and puberty. Pennsylvania: Elsevier, 2013. 13p.

Badinga, L., A. Guzeloglu, M. Binelli e WW Thatcher. 2000. A somatotropina bovina atenua a liberação de PGF₂ induzida pelo éster de forbol em células endometriais bovinas. *Biol. Reprod* 62 (Supl. 1):150(Resumo).

Barroso, J. P. R., Baggio, M., Dos Santos Maia, K., Carolina, L., Soares, B., Polizel, D. M., & De Castro Ferraz, M. V. Estratégias genéticas e nutricionais aplicadas nas fases do desenvolvimento para antecipar a puberdade de novilhas de corte no Brasil. *Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal*, 131, 2020.

Bertan, C.M.; Binelli, M.; Madureira, E.H.; Traldi, A.S. Mecanismos Endócrinos e Moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise – Revisão Literatura. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science* v.43, n.6, p.824-840, 2006.

Bittar, C.M.M.; Ferreira, L. S.; Silva, J.T. Sucedâneos lácteos para bezerras leiteiras. *Cad. técn. Vet. Zoot.v.* 81, p.56-74, jun. 2016.

Bó, G. A. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 15, n. 1, p. 952-962, 2018.

CARDOSO, Daniel; NOGUEIRA, Guilherme De Paula. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. *Arquivo Ciência Veterinária Zoologia Unipar*, v. 10, ed. 1, p. 59-67, 2007

Chaves, Leonardo Trentin. Relatório do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária. 2019. 43 fls. (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução de Bovinos de Corte) - Universidade Federal do Pampa, Uruguai, 2019.

Cooke, R. F.; Bohnert, D. W.; Francisco, C. L.; Marques, R. S.; Mueller, C. J.; Keisler, D. H. Effects of bovine somatotropin administration on growth, physiological, and reproductive responses of replacement beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 91, n. 6, p. 2894-2901, 2013.

Diaz, A.P. Criopreservação e transferência não cirúrgica de embriões bovinos: alguns aspectos que influenciam a taxa de gestação. 1988. 79f. Dissertação

(Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Diskin, M. G.; Mackey, D. R.; Roche, J. F.; et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 78, n. 3, p. 345-370, 2003.

Fernandes, C.A.C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n. 3, p.263-266, 1999.

Ferreira, E.M., Et Al. Efeito da produção de novilhas à pasto sobre a puberdade. In: Rodrigues, R., C., & Parante, M., O. (Org.). *Anais do SIMPRUPASTO: o uso da ciência e de tecnologias para a mudança de paradigmas* (pp.128-158) Chapadinha, MA, Brasil, 2012.

Fonseca, A. P., Puberdade e características da dinâmica folicular de novilhas f1 holandês x gir com fenótipos divergentes para consumo alimentar residual. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Belo Horizonte, p.20, 2017.

Fraser, D.; Ritchie, J.S. and Fraser, A.F. 1975. The term stress in a veterinary context. *Brit Vet*, 131: 653-662.

Freitas, D. A.; Damaceno, E. S. Santos, V. S. Iatf (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) na bovinocultura leiteira. Franca, 2022.

Guerreiro, Vagner Jannuzzi. Puberdade em Novilhas. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 17p, 2009.

Hammond, J.M.; Modschein, J.S.; Samaras, S.E. The ovarian insulinlike growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, Oxford, v.40, p.411,1991.

Hoffman, P. C.; Funk, D. A. Applied Dynamics of Dairy Replacement Growth and Management. *Journal of Dairy Science*. vol. 75. n. 9. 1992.

IBGE. Censo agropecuário. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021, Brasília. DF. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 24/04/2023.

Izadyar, F., B. Colenbrander e MM Bevers. 1996. A maturação in vitro de ovócitos bovinos na presença de hormônio do crescimento acelera a maturação nuclear e promove subsequente maturação embrionária.desenvolvimento. Mol. Reprodução. Dev. 45:372–377.

Jones, E., Armstrong, J., And Harvey, R. Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais, and Simmental heifers. J. Anim. Sci. 69: 1607–1615., 1991.

Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. and Bruss, M.L. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals. 5ª ed. Academic Press. New York

Kirby, C.J.; Lucy, M.C; Smith, M.F. Follicular function of lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin. Journal of Animal Science, Champaign, v.73, p.89,1995.

Lima, R. S.; Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação de novilhas Nelore. Tese, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo, 2017.

Lowman, B. G.; Scott, N. A. And Somerville, S. H. Condition scoring of cattle. Bulletin 6. East of Scotland College of Agriculture, Edinburgh, UK, 1976.

Lucy, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. Journal of Dairy Science, Savoy, v.83, p.1635- 1647, 2000.

Lucy, Mc, Rj Collier, ML Kitchel, JJ Dibner, SD Hauser e GG Krivi. 1993. Análise imuno-histoquímica e de ácido nucleico de populações de receptores de hormônio do crescimento no ovário bovino. Biologicamente. Reprodução. 48:1219-19227.

Macedo, G.G.; Zúccari, C.E.S.N.; Pinto de Abreu U.G.; Negrão, J.A. and Costa e Silva, E.V. 2011. Human–animal interaction, stress, and embryo production in Bos

indicus embryo donors under tropical conditions. *Trop Anim Health Prod*, 43: 1175-82.

McDONALD, L. E. *Veterinary endocrinology and reproduction*. Philadelphia: Lea &Febiger, 2003. 597p.

Moreira, F., CA Risco, MFA Pires, JD Ambrose, M. Drost e WW Thatcher. 2000c. Uso de somatotropina bovina em vacas leiteiras em lactação recebendo inseminação artificial cronometrada. *J. Laticínios Sci.* 83:1245–1255.

National Research Council. *Nutrient requirements of beef cattle. Minerals*, 7. ed. rev. Washington: National Academic Press, 1996.

Noakes, D.E. Endogenous and Exogenous Control of Ovarian Cyclicity. In: Noakes, D.E.; Parkinson, T.J.; England, C.G.W. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8 Ed. London: Saunders, 2001. Cap. 1, p. 2-53.

Ribeiro Filho, A. D. L., Rodrigues, A. S., Lima, M. C. C., Ferraz, P. A., Loiola, M. V. G., & Bittencourt, R. F. (2011). Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldades no procedimento de inovulação. *Ciência Animal Brasileira*, 12(4), 727-732.

Ribeiro, L. G. M., et al. Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on the in vivo production and in vitro maturation of bovine oocytes of the Sindi breed. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 72(1), 25–32, 2020.

Rodrigues, H.D.; Kinder, J.E.; Fitzpatrick, L.A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages, *Biology of Reproduction*, Champaign, v. 66, p. 603–609, 2002.

Santos, J.E.P.; Sá Filho, M.F. *Nutrição e reprodução em bovinos. Biotecnologias da Reprodução em Bovinos* In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA2., 2006., Londrina. Anais... Londrina, p. 30-54., 2006.

Santos, M. H.; Ferraz Júnior, M. V. C.; Polizel, D. M.; Barroso, J. P. R.; Miszura, A. A.; Martins, A. S.; Pires, A. V. Decreasing from 9 to 7 days the permanence of

progesterone inserts make possible their use up to 5 folds in suckled Nellore cows. *Theriogenology*, v. 111, p. 56-61, 2018.

Saraiva MVA, Matos MHT, Faustino LR, et al. 2010. Hormônios hipofisários e seu papel na foliculogênese. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 34(4):206- 221.

Silva, É.B et al. Principais enfermidades que acometem bezerros neonatos. *Res. Soc. Dev.* [s. l.], 30 de maio 2019.

Silveira, G.J.M.; Fernandes, M.S.; Pessoa, G.A.; Martini, A.P.; Guerreiro, B.M.; Freitas, B.G. Uso da progesterona injetável na indução da ciclicidade em novilhas pré-púberes: taxa de prenhez à IATF. *Inovação e Pluralidade na Medicina Veterinária*, v. 3, n. 9, p. 56-64, 2020.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

São escassas na literatura pesquisas utilizando o RBST em protocolos de indução, apesar da existência de muitas informações acerca de seu uso em protocolos de TETF e IATF. Portanto, as informações obtidas através deste estudo são inéditas. Todavia, é necessário que a inclusão do RBST em protocolos de indução seja testada com um número amostral maior, e sendo realizada, além das avaliações ginecológicas, a dosagem plasmática de P4.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adams, Greg P. et al. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of reproduction and fertility*, v. 94, n. 1, p. 177-188, 1992.

Anderson, L. H., McDowell, C. M. & Day, M. L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biology of Reproduction*, 54, 1025-1031, 1996.

Antunes, M. F e Primieri, C. Indução de puberdade em novilhas com a utilização de progesterona injetável. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG* v. 3 n. 2, 2020.

Araújo et al. Indução da puberdade em novilhas com uso de hormonioterapia. *Ciência Animal*, 17(2):83-89, 2007.

Araújo, A. C. C., Nonato, M. S., Bezerra, A. R. A., Murta, D. C. R. X., Murta, D. V. F., Santos, J. M. L., Souza, R. B. de, & Carneiro, J. A. M. (2019). Efeito indução da ovulação em novilhas com protocolo de ciclicidade / Induction of ovulation in heifers with memorandum of cyclicity. *Brazilian Journal of Development*, 5(11), 24286–24290.

Araujo, A. C. R.; Sales, A. F. F.; Ferreira, J. P. V.; Neves Neto, J. T. Indução à puberdade em novilhas. In: *Colóquio Estadual de Pesquisa Interdisciplinar e Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar*, II-I. Anais... 2018.

Asler, J.F. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.79, n. 3-4, p.245–264, 2003.

Atkins J. A, Pohler K. G., Smith M. F. Physiology and endocrinology of puberty in heifers. 2013, citado por PATTERSON, D. J; SMITH, M. F. (editor) *Veterinary clinics of North America: food animal practice. Management considerations in beef heifer development and puberty*. Pennsylvania: Elsevier, 2013. 13p.

Badinga, L., A. Guzeloglu, M. Binelli e WW Thatcher. 2000. A somatotropina bovina atenua a liberação de PGF₂ induzida pelo éster de forbol em células endometriais bovinas. *Biol. Reprod* 62 (Supl. 1):150(Resumo).

Barb, C. R.; Kraeling, R.R. Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Anim Reprod Sci*, 2004.

Barroso, J. P. R., Baggio, M., Dos Santos Maia, K., Carolina, L., Soares, B., Polizel, D. M., & De Castro Ferraz, M. V. Estratégias genéticas e nutricionais aplicadas nas fases do desenvolvimento para antecipar a puberdade de novilhas de corte no Brasil. *Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal*, 131, 2020.

Bauman, D. E. Bovine somatotropin: review of an emerging animal thechnology. *Journal of Dairy Science*, v. 75, p. 3432-3451, 1992.

Beal, W. E., And G. A. Good. Synchronization of estrus in postpartum beef cows with melengestrol acetate and prostaglandin F- J. *Anim. Sci.* 63:343, 1986.

Beal, W. E., G. A. Good, And L. A. Peterson Estrous synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with Syncremate B or Norgestomet and Alfaprostol *Theriogenology* 8459, 1984.

Bertan, C.M.; Binelli, M.; Madureira, E.H.; Traldi, A.S. Mecanismos Endócrinos e Moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise – Revisão Literatura. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science* v.43, n.6, p.824-840, 2006.

Bittar, C.M.M.; Ferreira, L. S.; Silva, J.T. Sucedâneos lácteos para bezerras leiteiras. *Cad. técn. Vet. Zoot.* v. 81, p.56-74, jun. 2016.

Bó, G. A. Programs for fixed-time artificial insemination in South American beef cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 15, n. 1, p. 952-962, 2018.

Bowen, J. F; Burghardt, R. C. Cellular mechanisms of implatation in domestic farm animals. *Semin. Cell Dev. Biol.*, v.11 p. 93-104, 2000.

Brickell, J. S.; Bourne, N.; Cheng, Z.; Wathes, D. C. Influence of plasma IGF-1 concentrations and body weight at 6 months on age at first calving in dairy heifers on commercial farms. *Reproduction in Domestic Animals*, n. 42, (Suppl. 2) p. 118, 2007.

Cardoso, Daniel; Nogueira, Guilherme De Paula. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. *Arquivo Ciência Veterinária Zoologia Unipar*, v. 10, ed. 1, p. 59-67, 2007

Carvajal, A. et al. El ciclo estral en la hembra bovina y su importancia productiva. *Instituto de Investigaciones Agropecuarias*, v. 246, 2020.

Chaves, Leonardo Trentin. Relatório do Estágio Curricular Supervisionado em Medicina Veterinária. 2019. 43 fls. (Medicina Veterinária, Área de Concentração: Reprodução de Bovinos de Corte) - Universidade Federal do Pampa, Uruguai, 2019.

Cooke, R. F.; Bohnert, D. W.; Francisco, C. L.; Marques, R. S.; Mueller, C. J.; Keisler, D. H. Effects of bovine somatotropin administration on growth, physiological, and reproductive responses of replacement beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 91, n. 6, p. 2894-2901, 2013.

Costa, J.V.; Duarte, J.S. Tecido adiposo e adipocinas. *Acta MedPort*, 19(3), 251-6, 2006.

Cunha, Júlia Monteiro Et Al. Aspectos Fisiológicos Do Ciclo Estral Em Bovinos. In: *Anais Colóquio Estadual de Pesquisa Multidisciplinar (ISSN-2527-2500) & Congresso Nacional de Pesquisa Multidisciplinar*. 2019.

Cushman, R.A.; De Souza, J.C.; Helgpeth, V.S.; Britt, J.H. Effect of longterm treatment with recombinant bovine somatotropin and estradiol on hormone concentrations and ovulatory response of superovulated cattle. *Theriogenology*, New York, v.55, p.1533-1547, 2001.

Cutini, A.; Teruel, M.; Cabodevila, J. Factores que determinan el resultado de la transferencia no quirúrgica de embriones bovinos. *Revista Taurus*, v.2, n. 8, p.35-47, 2000.

Day, M. L.; Nogueira, G. P. Management of age at puberty in beef heifers to optimize efficiency of beef production. *Animal Frontiers*, v. 3, n. 4, p. 6–11, 2013.

De La Gallegos Hoya, M.P.; Ramirez, J.A.T.; Contreras, P.R.; Diaz, C.E.P.; Saucedo, J.S.Q. Role of Leptin in Cattle Production: Review. *J Ani Vet Adv*; 14 (4):81-90, 2015.

Diaz, A.P. Criopreservação e transferência não cirúrgica de embriões bovinos: alguns aspectos que influenciam a taxa de gestação. 1988. 79f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Diskin, M. G.; Mackey, D. R.; Roche, J. F.; et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 78, n. 3, p. 345-370, 2003.

Echternkamp, S. E.; Roberts, A. J.; Lunstra, D. D.; Wise, T.; Spicer, L. J. Ovarian follicular development in cattle selected for twin ovulations and births. *Journal of Dairy Science*, n. 82, p. 459–471, 2004.

Eckery Dc, Moeller Cl, Nett Tm. et al. Recombinant bovine somatotropin does not improve superovulatory response in sheep. *Journal of Animal Science*, 72: 2425-2430, 1994.

Evans, A.C.O.; Adams, G.P.; Rawlings, N.C. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fert., Cambridge*, v.102, n.1, p.463-470, 1994.

Fernandes, C.A.C. Inovulações não cirúrgicas e taxa de gestação de receptoras de embrião. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n. 3, p.263-266, 1999.

Ferreira, A. M. Reprodução da fêmea bovina: fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamentos). Juiz de Fora, Minas Gerais. 1º edição, p. 39-41, 2010.

Ferreira, E.M., Et Al. Efeito da produção de novilhas à pasto sobre a puberdade. In: Rodrigues, R., C., & Parante, M., O. (Org.). Anais do SIMPRUPASTO: o uso da ciência e de tecnologias para a mudança de paradigmas (pp.128-158) Chapadinha, MA, Brasil, 2012.

Fissore, R. A., A. J. Edmondson, R. L. Pashen, And R. H. Bondurant. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. J.I. Nonpregnant, pregnant and pathological conditions of the uterus. Anim. Reprod. Sci.12:167., 1986.

Fonseca, A. P., Puberdade e características da dinâmica folicular de novilhas f1 holandês x gir com fenótipos divergentes para consumo alimentar residual. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Belo Horizonte, p.20, 2017.

Fortune, J.E.; Rivera, G.M.; Yang, M.Y. Follicular development: the role of the follicular micro environmet in selection of the dominant follicle. Anim Reprod Sci, v.82/83, p.109-126, 2004.

Frandsen Rd, Wilke WI, Fails Ad. Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda. 7ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 413p., 2016.

Fraser, D.; Ritchie, J.S. and Fraser, A.F. 1975. The term stress in a veterinary context. Brit Vet, 131: 653-662.

Freitas, D. A.; Damaceno, E. S. Santos, V. S. Iatf (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) na bovinocultura leiteira. Franca, 2022.

Freitas. Indução de ciclicidade é uma importante estratégia para incrementar a taxa de prenhez à IATF em novilhas. 2015. Disponível em:<https://www.ourofinoaudeanimal.com/ourofinoemcampo/categoria/artigos/induc-o-de-ciclicidade-e-uma-importante-estrategia/>. Acesso em: 15 de junho de 2023.

Ginther O.J. Aplicações de pesquisa de imagens ultrassônicas em biologia reprodutiva. J Anim Sci 70, 953-972, 1992.

GLUCKMAN, P.D.; BREIER, B.H.; DAVIS, S.R. Physiology of the somatotropin axis with particular reference to the ruminant. Journal of Dairy Science, Savoy, v.70, p.442-466, 1987.

Gong, J. G. et al. Effects of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis in vitro. Journal of Endocrinology, v. 143, n. 1, p. 157-164, 1994.

Gong, J.G.; Bramley, T.A.; Webb, R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. Biology of Reproduction, Madison, v.45, p.941-949, 1991.

Gonzalez-Padilla, E., R. Ruiz, D. Lefever, A. Denham, And J. N. Wiltbank. Puberty in beef heifers. 111. Induction of fertile estrus. J. Anim. Sci. 40:1110, 1975.

Granger, A. L.; Wyatt, W. E.; Craig, W. M.; Thompson, D. L.; Hembry, F. G. Effects of breed and wintering diet on growth puberty and plasma concentrations of growth hormone and insulin-like growth factor-I in heifers. Domestic Animal Endocrinology, v. 6, p. 253–263, 1989.

Griffin, P. G., & Ginther, O. J. Research Applications of Ultrasonic Imaging in Reproductive Biology. Department of Veterinary Science, University of Wisconsin-Madison, v.1, p.1-20, 1992.

Guerreiro, Vagner Jannuzzi. Puberdade em Novilhas. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, 17p, 2009.

Hammond, J.M.; Modschein, J.S.; Samaras, S.E. The ovarian insulinlike growth factors, a local amplification mechanism for steroidogenesis and hormone action. Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, Oxford, v.40, p.411, 1991.

Herzog K, Bollwein H. Aplicação da ultrassonografia Doppler na reprodução bovina. *Reprod Dom Anim* 42, 51–58, 2007.

Hoffman, P. C.; Funk, D. A. Applied Dynamics of Dairy Replacement Growth and Management. *Journal of Dairy Science*. vol. 75. n. 9. 1992.

IBGE. Censo agropecuário. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2021, Brasília. DF. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 24/04/2023.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. PIB cresce 1,9% no primeiro trimestre, impulsionado pela Agropecuária. Estatísticas econômicas, Agência IBGE notícias, 2023. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/37030-pib-cresce-1-9-no-primeiro-trimestre-impulsionado-pela-agropecuaria>. Acesso em: 15/06/23.

Izadyar, F., B. Colenbrander e MM Bevers. 1996. A maturação in vitro de ovócitos bovinos na presença de hormônio do crescimento acelera a maturação nuclear e promove subsequente maturação embrionária. *desenvolvimento. Mol. Reprodução. Dev.* 45:372–377.

Jainudeen, M.R.; Wahid, H.; Hafez, E.S.E. Indução da Ovulação, Produção e Transferência de Embriões. In: Hafez, E.S.E.; Hafez, B. *Reprodução Animal*. 7. ed. Rio de Janeiro: Manole, 2004. p.409-434.

Jones, E., Armstrong, J., And Harvey, R. Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Braford, Charolais, and Simmental heifers. *J. Anim. Sci.* 69: 1607–1615., 1991.

Kaneko, J.J.; Harvey, J.W. and Bruss, M.L. 1997. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5ª ed. Academic Press. New York

Kirby, C.J.; Lucy, M.C; Smith, M.F. Follicular function of lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin. *Journal of Animal Science*, Champaign, v.73, p.89,1995.

Kölle S, Sinowatz F, Boie G, et al. Developmental changes in the expression of the growth hormone receptor messenger ribonucleic acid and protein in the bovine ovary. *Biology of Reproduction*, 59(4): 836-842, 1998.

Leal, L.S.; Oba, E.; Fernandes, C.A.C.; Sá Filho, O.G. Avaliação do corpo lúteo, contratilidade uterina e concentrações plasmáticas de progesterona e estradiol em receptoras de embriões bovinos. *Ciência Animal Brasileira*, v.10, n.1, p. 174-183, 2009.

Lima, R. S.; Emprego de progesterona injetável de longa ação para pré-sincronização da ovulação de novilhas Nelore. Tese, Faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo, 2017.

Lowman, B. G.; Scott, N. A. And Somerville, S. H. Condition scoring of cattle. Bulletin 6. East of Scotland College of Agriculture, Edinburgh, UK, 1976.

Lucy, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v.83, p.1635- 1647, 2000.

Lucy, Mc, Rj Collier, ML Kitchel, JJ Dibner, SD Hauser e GG Krivi. 1993. Análise imuno-histoquímica e de ácido nucleico de populações de receptores de hormônio do crescimento no ovário bovino. *Biologicamente. Reprodução*. 48:1219-19227.

Macedo, G.G.; Zúccari, C.E.S.N.; Pinto de Abreu U.G.; Negrão, J.A. and Costa e Silva, E.V. 2011. Human–animal interaction, stress, and embryo production in *Bos indicus* embryo donors under tropical conditions. *Trop Anim Health Prod*, 43: 1175-82.

Magi, L.H. Efeito de diferentes métodos de indução à puberdade sobre a resposta reprodutiva em novilhas nelore Nativa, Sinop, v. 8, n. 5, p. 658-662, set./out. 2020.

Malhado, C. H. M.; Malhado, A. C. M.; Martins Filho, R.; Carneiro, P. L. S.; Pala, A.; Adrián Carrillo, J. Age at first calving of Nellore cattle in the semi-arid region of northeastern Brazil using linear, threshold, censored and penalty models. 2013.

McDONALD, L. E. Veterinary endocrinology and reproduction. Philadelphia: Lea &Febiger, 2003. 597p.

Moran, C., Quirke, J., E Roche, J. Puberty in heifers: a review. Anim. Reprod. Sci. 18: 167–182., 1989.

Moreira, F., CA Risco, MFA Pires, JD Ambrose, M. Drost e WW Thatcher. 2000c. Uso de somatotropina bovina em vacas leiteiras em lactação recebendo inseminação artificial cronometrada. J. Laticínios Sci. 83:1245–1255.

National Research Council. Nutrient requirements of beef cattle. Minerals, 7. ed. rev. Washington: National Academic Press, 1996.

Niciuria, S.C.M. Anatomia e fisiologia da reprodução das fêmeas bovinas. Série Tecnologia APTA. Boletim Técnico,51, p.15-27, 2008.

Noakes, D.E. Endogenous and Exogenous Control of Ovarian Cyclicity. In: Noakes, D.E.; Parkinson, T.J.; England, C.G.W. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics. 8 Ed. London: Saunders, 2001. Cap. 1, p. 2-53.

NOGUEIRA Et. Al., Ultrassonografia na reprodução e avaliação de carcaças em bovinos. Capítulo 1: Anatomofisiologia do ciclo estral de fêmeas bovinas, p. 18. Embrapa, Brasília – DF, 2017.

Nugent, R. A.; Jenkins, T. G.; Roberts, A. J.; Klindt, J. Relationship of postpartum interval in mature beef cows with nutritional environment, biological type and serum IGF-1 concentrations. Animal Production, v. 56, n. 02, p. 193-200, 1993.

Patton, J.; Kenny, D.A.; Mcnamara, S.; Mee, J.F.; Omara, F.P.; Diskin, M.G. et al. Relationships among milk production, energy balance, plasma analyses, and reproduction in Holstein–Friesian cows. Journal of Dairy Science, n. 90 p. 649–658, 2007.

Peel, Colin J.; Bauman, D. E. Somatotropin and lactation. Journal of Dairy Science, v. 70, n. 2, p. 474-486, 1987.

Pereira, G.R.; Barcellos, J.O.J.; Sessim, A.G.; Tarouco, J.U.; Feijó, F.D.; Braccini Neto, J.; Canozzi, M. E. A. Relationship of post-weaning growth and age at puberty in crossbred beef heifers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 46, n. 5, p. 413-420, 2017.

Pierson, R. A., Ginther. O. J. Intraovarian effect of 12:167. the corpus luteum on ovarian follicles during the early pregnancy in heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 1553. 1987.

Ramirez, D., McCann, S. Comparison of the regulation of luteinizing hormone (LH) secretion in immature and adult rats. *Endocrinology* 72: 452–464, 1963.

Rathbone, M. J; Kinder, J. E.; Fike, K. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 50, p. 277-320, 2001.

Ribeiro Filho, A. D. L., Rodrigues, A. S., Lima, M. C. C., Ferraz, P. A., Loiola, M. V. G., & Bittencourt, R. F. (2011). Taxa de gestação de receptoras de embriões bovinos com diferentes graus de dificuldades no procedimento de inseminação. *Ciência Animal Brasileira*, 12(4), 727-732.

Ribeiro, L. G. M., et al. Effect of recombinant bovine somatotropin (rbST) on the in vivo production and in vitro maturation of bovine oocytes of the Sindi breed. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 72(1), 25–32, 2020.

Rippe, Christian A. El ciclo estral. In: *Dairy Cattle Reproduction Conference*. p. 111-116, 2009.

Roberts, A.J.; Nugent, R.A.; Klindt, J.; Jenkins, T.G. Circulating insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding proteins, growth hormone, and resumption of oestrus in post-partum cows subjected to dietary energy restriction. *Journal of Animal Science*, v. 75, p. 1909–1917, 1997.

Rodrigues, H.D.; Kinder, J.E.; Fitzpatrick, L.A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages, *Biology of Reproduction*, Champaign, v. 66, p. 603–609, 2002.

Rodriguez, R. E.; Wise, M. E. Advancement of postnatal pulsatile luteinizing hormone secretion in the bull calf by pulsatile administration of gonadotropin releasing hormone during infantile development. *Biology of Reproduction*, Madison, v. 44, p. 432-439, 1991.

Rutter, L.M.; Snopek, R.; Manns, J.G. Serum concentrations of IGF-I in postpartum beef cows. *Journal of Animal Science*, v. 67, p. 2060–2066, 1989.

Santiago, Luciene. R. Folículo Dominante e Resposta Superovulatória em Novilhas da Raça Nelore. *Bras. Zootec.*, v.31, n.1, p.363-368, 2002.

Santos, J.E.P.; Sá Filho, M.F. Nutrição e reprodução em bovinos. *Bioteχνologias da Reprodução em Bovinos In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA2*, 2006., Londrina. Anais... Londrina, p. 30-54., 2006.

Santos, M. H., Ferraz Júnior, M. V. C., Polizel, D. M., Barroso, J. P. R., Miszura, A. A., Martins, A. S. & Pires, A. V. 2018. Decreasing from 9 to 7 days the permanence of progesterone inserts make possible their use up to 5 folds in suckled Nelore cows. *Theriogenology*, 111, 56-61. 2020.

Santos, M. H.; Ferraz Júnior, M. V. C.; Polizel, D. M.; Barroso, J. P. R.; Miszura, A. A.; Martins, A. S.; Pires, A. V. Decreasing from 9 to 7 days the permanence of progesterone inserts make possible their use up to 5 folds in suckled Nelore cows. *Theriogenology*, v. 111, p. 56-61, 2018.

Santos, R. A.; Teixeira, J. C.; Abreu, L. R.; Muniz, J. A.; Deresz, F. Efeito de diferentes doses de Somatotropina Bovina (rbST) na Produção e Composição do Leite. *Ciências Agrotécnicas*, v. 25, n. 6, p. 1435-1445, 2001.

Saraiva MVA, Matos MHT, Faustino LR, et al. 2010. Hormônios hipofisários e seu papel na foliculogênese. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 34(4):206- 221.

Schams, D., Schallenberger, E., Gombe, S. & Karg, H. Endocrine patterns associated with puberty in male and female cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, 30, 103-110. 1981.

Senger, P. L. Pathways to Pregnancy and Parturition. 2. ed. Local: Moscow, Indiana. Current Conceptions, Inc., 2003.

Silva, E. C. Endometrite bovina: relatos na bacia leiteira de Nossa Senhora da Glória, Sergipe. 2022. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Sergipe, Nossa Senhora da Glória, 2022.

Silva, É.B et al. Principais enfermidades que acometem bezerros neonatos. Res. Soc. Dev. [s. l.], 30 de maio 2019.

Silveira, G.J.M.; Fernandes, M.S.; Pessoa, G.A.; Martini, A.P.; Guerreiro, B.M.; Freitas, B.G. Uso da progesterona injetável na indução da ciclicidade em novilhas pré-púberes: taxa de prenhez à IATF. Inovação e Pluralidade na Medicina Veterinária, v. 3, n. 9, p. 56-64, 2020.

Smith, M. F., A. W. Lishman, G. S. Lewis, P. G. Harms, M. R. Eilersieck, E. K. Inskeep, J. N. Wiltbank And M. S. Amoss Pituitary and ovarian responses to gonadotropin releasing hormone, calf removed and progestogen in anestrous beef cows. J. Anim. Sci. 57:418, 1983.

Soares, G.G. et al. Diferentes apresentações de duplicidade cervical identificadas em peças do aparelho reprodutor feminino de bovinos—Relato de 5 casos. Rev. Bras. Reprod. Anim, v. 43, n. 4, p. 824-828, 2019.

Soares, P.H.A.; Junqueira, F.S. Particularidades reprodutivas da fêmea bovina: Revisão. PUBVET, v. 13, p. 148, 2018.

Sorensen, A. M.; Hansel, W.; Hough, W. H.; et al. Causes and prevention of reproductive failures in dairy cattle. 1. Influence of underfeeding and overfeeding on growth and development of Holstein heifers. Cornell Agric. Exp. Stat. p.51, 1959.

Spell, A.R.; Bell, W.E.; Corah, L.R.; Lamb, G.C. Evaluating Recipient and Embryo Factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. Theriogenology, v.56, n. 1, p.287-297, 2001.

Spicer, L. J.; Stewart, R. E. Interaction among bovine somatotropin, insulin, and gonadotrophins on steroid production by bovine granulosa and theca cells. *Journal of Dairy Science*, v. 79, p. 813–821, 1996.

Spicer, L.J. Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction. *Domestic Animal Endocrinology*, Stoneham, v. 21, p. 251-270, 2001.

Sprecher, D. J., E R. L. Nebel. B-mode ultrasonic morphology of bovine follicular and luteal ovarian cysts. *Agripractice*, 1988.

Sreenan, J.M.; Diskin, M.G. Factors affecting pregnancy rates following embryo transfer in the cow. *Theriogenology*, v.27, n. 1, p.99-113, 1987.

Stewart, R. E.; Spicer, L. J.; Hamilton, T. D.; Keefer, B. E.; Dawson, L. J.; Morgan, G. L.; Echternkamp, S. E. Levels of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins, luteinizing hormone and IGF-I receptors, and steroids in dominant follicles during the first follicular wave in cattle exhibiting regular estrous cycles. *Endocrinology*, v. 137, p. 2842–2850, 1996.

Tanner, J.W.; Hauser, S.D. Molecular evidence for the presence of the somatotropin receptor in the bovine ovary. *Journal of Dairy Science*, Savoy, v.67, p. 413-420, 1989.

Vasconcelos, J. L. M. Reproductive programs for beef cattle: incorporating management and reproductive techniques for better fertility. *Animal Reproduction Science*, v.14, n.3, p.547-557, 2017.

Velazquez, M. A.; Newman, M.; Christie, M.F.; Cripps, P.J.; Crowe, M.A.; Smith, R. F. et al. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor¹ as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program. *Theriogenology*, n. 64, p. 1977–1994, 2005.

Viana, J.H.M.; Camargo, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: uma nova realidade. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, n. 3, p.915-924, 2007.

Vilela, Gustavo Cirineu. Protocolos de IATF em novilhas precoce e super precoce. Orientador: Stefania Márcia de Oliveira Souza. 2021. 23f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Medicina Veterinária) - Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos, 2021.

Weeb, R., Amstrong, D. G. Controlo f ovarian function: effect of local interaction and environmental influences on follicular turnover in cattle: a review. *Livest. Prod. Sci.*, v. 53, n. 2, p. 95-112, 1998.

Williams, G. L. 1990. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. *J. Anim. Sci.* 88:831.

Williams, G.L.; Amstalden, M.; Garcia, M.R.; Stanko, R.L.; Nizielski S.E.; Morrison, C.D.; Keisler, D.H. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, v.23, p. 339-349, 2002.

Yilmaz, A.; Davis, M. E.; Simmen, R. C. M. Analyses of female reproductive traits in Angus beef cattle divergently selected for blood serum insulin-like growth factor I concentration. *Theriogenology*, n. 65, p. 1180–90, 2006.