



GABRIEL SILVA SENA BASTOS

**BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS UTILIZADAS NA
BOVINOCULTURA DE CORTE**

LAVRAS - MG

2019

GABRIEL SILVA SENA BASTOS

**BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS UTILIZADAS NA BOVINOCULTURA DE
CORTE**

Trabalho de Conclusão de Curso sobre estágio supervisionado apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Zootecnia, para a obtenção do título de Bacharel.

Prof. José Camisão de Souza, PhD

Orientador

LAVRAS – MG

2019

GABRIEL SILVA SENA BASTOS

BIOTECNOLOGIAS REPRODUTIVAS UTILIZADAS NA BOVINOCULTURA DE CORTE

REPRODUCTIVE BIOTECHNOLOGIES USED ON CATTLE

Trabalho de Conclusão de Curso sobre estágio supervisionado apresentado à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Zootecnia, para a obtenção do título de Bacharel

APROVADO em	
José Camisão de Souza, PhD	UFLA
Marcelo Siqueira el Azzi, Doutorando	UFLA
Victor Hugo Silva Souza, Mestrando	UFLA

Prof. Dr. José Camisão de Souza
Orientador

LAVRAS – MG

2019

AGRADECIMENTOS

Enfim é chegado ao fim de mais uma etapa, o único sentimento possível para esse momento é o sabor da vitória que será sempre especial a todos que lutam e batalham afim de alcançar seus objetivos

Tudo isso não seria possível sem aqueles que sempre caminharam ao meu lado, portanto neste momento gostaria de agradecer infinitamente a minha mãe e meu pai, pois sem eles nada disso seria possível, sempre me apoiando, incentivando, corrigindo quando necessário, mesmo com todas dificuldades que as vezes nos fez até pensar em desistir. Agradecer imensamente a Cristina que também sempre apoiou, acreditou e me aconselhou.

Sem sombra de dúvidas um enorme obrigado e um maior ainda "eu te amo" a Natália, minha companheira sempre firme ao lado nos altos e baixos, que a gente sempre continue assim e também a sua família por me receber em sua casa como se eu fosse um de vocês.

Não posso e nunca esquecerei de meu treinador Robinho, muito do que sou hoje devo a você.

Aos amigos que fiz nessa cidade que por muito tempo chamei de casa, as velhas amizades que mesmo com a distância e breves reencontros nunca enfraqueceu.

A equipe Biotran por ter me recebido em Alfenas, aberto as portas da empresa onde pude evoluir e aprender muito durante o estágio.

E finalmente agradecer a Universidade Federal de Lavras pela incrível experiência que é realizar um curso de graduação.

“But all’s well as ends well”

J. R. R. Tolkien, Lord of the Rings

RESUMO

Este trabalho foi realizado objetivando entender e relatar as evoluções em reprodução animal, tanto em biotecnologias como inseminação artificial (IA), inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e transferências de embriões (TE), quanto em fisiologia aprofundando os conhecimentos endocrinológicos do ciclo estral da fêmea bovina, afim de suprir a maior necessidade de produção de produtos de origem animal a partir do aumento da população mundial. Tais relatos advém das experiências vivenciadas no Estágio Supervisionado, realizado no segundo semestre de 2019, onde foram realizadas atividades como: protocolo de inseminação artificial em tempo fixo, protocolos de superovulação para animais doadores de embrião, protocolo para animais receptores, coleta e transferências de embriões, além de outras atividades relacionadas a bovinocultura.

Palavras chave: biotecnologias reprodutivas, fisiologia, reprodução.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Controle endocrinológico do ciclo estral	16
Figura 2: Biotran Consultoria e Assessoria Veterinária	20
Figura 3: Central Biotran Fama - MG	21
Figura 4: Fazenda Retiro Alterosa – MG	21
Figura 5: Fazenda Santa Maria Alterosa - MG.....	22
Figura 6: Fazenda Monte Lago Alterosa - MG	23
Figura 7: Implante de P4	24
Figura 8: Mesa de trabalho para inseminação artificial.....	24
Figura 9: Ovário super ovulado	27
Figura 10: Inseminções artificiais no protocolo de SOV	28

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Protocolo de IATF	23
Quadro 2: Cronograma do protocolo de SOV	26
Quadro 3: Cronograma do protocolo de receptoras	29
Quadro 4: Resultados das coletas de embrião	30
Quadro 5: Cronograma do estudo de P4 injetável	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Rebanho Bovino Brasileiro (milhões de cabeças).....	14
Tabela 2: Produção de carne (ton).....	14

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Produção de sêmem no Brasil (doses).....	18
Gráfico 2: Diâmetro médio do maior folículo ao longo do estudo.....	31
Gráfico 3: Percentual de vacas que entraram em ciclicidade	32

LISTA DE SIGLAS

ECC	Escore de Condição Corporal
ECP	Cípcionato de Estradiol
FIV	Fertilização <i>in vitro</i>
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LH	Hormônio Luteinizante
ONU	Organização das Nações Unidas
PIB	Produto Interno Bruto
PGF2 α	Prostaglandina
P4	Progesterona
SOV	Superovulação
TE	Transferência de embrião
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 BOVINOCULTURA DE CORTE BRASILEIRA.....	14
2.2 ANATOMIA DO APARELHO REPRODUTOR DE FEMEAS BOVINAS	15
2.3 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO NA FÊMEA BOVINA.....	15
2.4 DINÂMICA FOLICULAR	16
2.5 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	17
2.6 INSEMINAÇÃO ARTIFIAL EM TEMPO FIXO	18
2.7 TRANSFÊRENCIA DE EMBRIÕES.....	19
3 ESTAGIO NA BIOTRAN CONSULTORIO E ASSESSORIA EM MEDICINA VETERINÁRIA.....	19
3.1 LOCAL E PERÍODO DO ESTAGIO.....	19
3.2 CARATERIZAÇÃO DA BIOTRAN	20
3.3 INSTALAÇÕES DA BIOTRAN	20
4 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTAGIO	23
4.1 PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO	23
4.2 PROTOCOLO DE PREPARAÇÃO PARA SUPEROVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIAS.....	25
4.4 COLETA E TRANSFERENCIA DE EMBRIÕES	29
4.5 ESTUDO DE PROGESTORONA INJETÁVEL.....	30
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	33
REFERÊNCIAS	34

1 INTRODUÇÃO

A população mundial tem crescido em números a cada ano, atualmente com 7,7 bilhões de pessoas ao redor do globo com uma população prevista para 9,7 bilhões de pessoas em 2050 (ONU 2019), esse aumento acarreta uma demanda por alimentos de origem animal, não só carne como leite e seus derivados. Tal padrão de crescimento, também é perceptível no Brasil, sendo de aproximadamente 210 milhões de habitantes no presente ano (IBGE 2019), a partir disso é necessário que a produção de alimento acompanhe o crescimento populacional não só em número, mas também em qualidade, tratando-se de alimentos de origem animal, tanto a carne como o leite, o país tem acompanhado o aumento da demanda elevando sua produção de carne de 391 mil toneladas em 2017 para mais de 495 mil toneladas em 2018 (ABIEC 2019).

O avanço da produção brasileira é devido, ao avanço nas áreas de nutrição, formação e conservação de pastagens, melhoramento genético e reprodução, esta última podemos citar as biotecnologias reprodutivas como a inseminação artificial convencional (IA), inseminação artificial em tempo fixo (IATF), fertilização *in-vitro* (FIV) e transferência de embriões (TE). Tais tecnologias possibilitam a aceleração do processo produtivo, garantindo uma maior quantidade de proles num menor espaço de tempo, podendo ainda difundir com alta velocidade genética de animais superiores. Tais técnicas reprodutivas apenas são bem-sucedidas quando se tem conhecimento da fisiologia reprodutiva do animal, sendo assim são necessários conhecimentos teóricos e práticos para detecção do cio nos animais ou protocolos de indução do mesmo para que se obtenha êxito.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BOVINOCULTURA DE CORTE BRASILEIRA

O Brasil possui o maior rebanho comercial de bovinos de corte no mundo (tabela 1) contando com 213 milhões de cabeças (IBGE 2019), com uma expansão prevista de 2% para os próximos anos de acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA).

Tabela 1: Rebanho Bovino Brasileiro (milhões de cabeças)

Brasil e Regiões	Ano			
	2015	2016	2017	2018
Brasil	215,220	218,190	215,003	213,523
Norte	47,175	47,983	48,508	48,614
Nordeste	29,092	28,393	27,791	27,836
Sudeste	38,812	39,123	37,550	37,111
Sul	27,434	27,577	27,026	26,122
Centro-Oeste	72,705	75,112	74,128	73,838

Fonte: IBGE 2019

O país produziu 9,9 milhões de toneladas de carne no ano de 2018 (USDA 2019), com uma produção esperada de 10,2 milhões de toneladas como exemplificado na tabela 2, abatendo cerca de 44,23 milhões de animais em 2018, exportando 495 mil toneladas de carne figurando dentre os maiores produtores e exportadores de carne do mundo. Tal produção movimenta mais de R\$597 bilhões (ABIEC 2018) considerando toda a cadeia produtiva, tal montante representa cerca de 9% do PIB nacional. Além do aumento da produção e exportação nacional o consumo interno também aumentou em torno de 4% comparando 2017 e 2018, sendo positivas as projeções para o ano vigente e os próximos.

Tabela 2: Produção de carne (ton)

ANO	MUNDO	EUA	BRASIL	EU	CHINA	INDIA
2014	60,81	11,07	9,72	7,44	6,89	4,1
2015	59,71	10,81	9,42	7,68	6,7	4,1
2016	60,47	11,5	9,28	7,88	7	4,2
2017	61,62	11,94	9,55	7,86	7,26	4,25
2018	62,87	12,28	9,9	7,91	7,32	4,3
2019	63,62	12,72	10,2	7,8	7,4	4,33

Fonte: USDA 2019

2.2 ANATOMIA DO APARELHO REPRODUTOR DE FEMEAS BOVINAS

O aparelho reprodutor da fêmea bovina é composto por: ovários, ovidutos (tuba uterina), útero, cérvix, vagina e vulva. Sendo os ovários as gônadas femininas e exercem tanto a função exócrina, liberação de oócitos, quanto a função endócrina, síntese e secreção de hormônios esteroides, sendo eles o estradiol produzido pelas células do folículo e a progesterona (P4) produzido pelo corpo lúteo. Os ovários possuem formato elíptico, medindo cerca de 3,0 a 4,5cm de comprimento por 1,5 a 2,0cm de largura, pesando entre 15 a 20 grama (JUNQUEIRA&CARNEIRO, 1995).

As tubas uterinas, são estruturas especializadas em transporte, realizam o transporte dos oócitos por meio de movimentos ciliares e contrações musculares. Medindo cerca de 25cm a tuba uterina é dividida em três porções, sendo elas: o infundíbulo, local de liberação do oócito no momento da ovulação, a ampola, porção intermediária da tuba uterina onde ocorre a fecundação e desenvolvimento inicial do embrião e o istmo parte proximal ao útero.

Em bovinos o útero se divide em dois cornos, corpo e colo, sendo sua principal função abrigar o embrião, após a fecundação, durante todo o período de gestação, fornecendo além de nutrientes para o desenvolvimento do embrião, proteção mecânica para o mesmo.

A cérvix pode ser identificado por seus anéis que possuem a função de armazenar e selecionar os espermatozoides viáveis, além de, durante a gestação, servirem como proteção do ambiente uterino. A vagina consiste no órgão copulatório da fêmea bovina, local de deposição do sêmen. Finalizando o aparelho reprodutor da fêmea bovina encontra-se a vulva, o fechamento externo do órgão reprodutor.

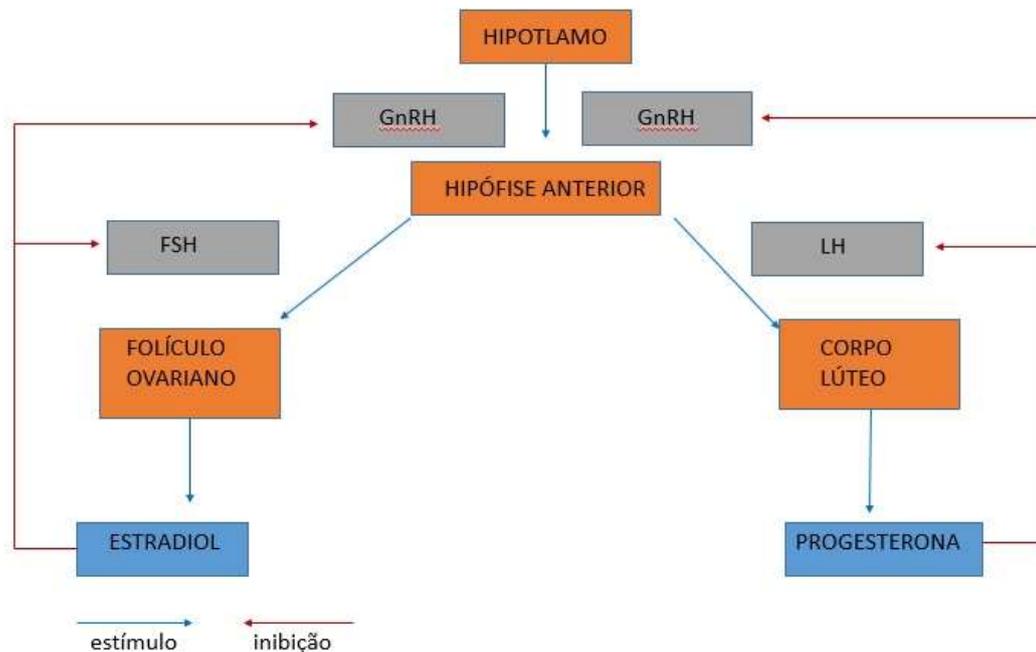
2.3 FISIOLOGIA DA REPRODUÇÃO NA FÊMEA BOVINA

A fisiologia da reprodução na fêmea bovina se dá em quatro etapas, o proestro, o estro ou cio propriamente dito, metaestro e diestro, sendo as duas primeiras etapas consideradas estrogênicas e as duas últimas progesterônica.

O ciclo estral é regulado pelo hipotálamo, hipófise e as gônadas. O início do ciclo se dá com a secreção de GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina) para a adeno-hipófise através do sistema porta-hipofisário, existem dois locais distintos de secreção de GnRH, os centros de controles de secreção tônicas que tem sua secreção continua e os centros controladores da onda pré-ovulatória que secretam grandes quantidades de uma só vez. A hipófise por sua vez secreta o FSH (hormônio folículo estimulante) que promove o recrutamento folicular e estimula o crescimento inicial dos folículos. Os folículos irão produzir estrógeno que provoca um efeito negativo na secreção tônica de gonadotrofina além de um efeito positivo no LH por sua vez é responsável pelo crescimento do folículo dominante, pela ovulação e formação do corpo lúteo.

A partir disso o ovário secreta estradiol através do folículo dominante e progesterona (P4) pelo corpo lúteo. O estradiol inibe a secreção de FSH e estimula o LH, em contrapartida a P4 inibe o LH e estimula o FSH, diante disso temos a definição das fases estrogênicas ou folicular e progesterônicas ou luteínicas do ciclo.

Figura 1: Controle endocrinológico do ciclo estral



Fonte: EMBRAPA 2007

2.4 DINÂMICA FOLICULAR

A dinâmica folicular consiste no processo contínuo de crescimento e regressão dos folículos onde um folículo se desenvolve até o estágio de folículo ovulatório (LUCY et al., 1992) durante o ciclo estral. O desenvolvimento folicular em bovinos envolve o recrutamento de um grupo de folículos, para iniciar o crescimento, dentre estes, um folículo é selecionado crescendo rapidamente em relação aos outros e suprimindo o crescimento dos demais, este folículo é chamado de dominante e pode chegar a ovular (FORTUNE, 1994; SIROIS & FORTUNE, 1998).

O recrutamento de folículos primordiais pode ser chamado de onda folicular, tais ondas ocorrem em dois padrões, o primeiro proposto por Rajakoski (1960) com duas ondas e um segundo padrão de três ondas definido por Ireland & Roche (1987), de forma que apenas a última onda forma o folículo ovulatório.

Durante a dinâmica folicular, no início do processo os folículos apresentam dimensões entre 4 e 6mm. No momento da divergência ou desvio folicular, momento no qual o folículo selecionado exerce dominância sobre os demais aumentando sua taxa de crescimento e os

demais entram em atresia, os folículos apresentam neste ponto 8,50mm em animais taurinos (GINTHER et al., 1999) e 6mm em animais zebuínos (SARTORELLI et al., 2005). O diâmetro do folículo pré-ovulatório em zebuínos está entre 10 a 12mm (FIGUEIREDO et al., 1997; PINHEIRO et al., 1998;) enquanto animais taurinos apresentam folículos entre 15 a 20mm (MURPHY et al., 1990; ADAMS et al., 1993; WOLFENSON et al, 2004).

2.5 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

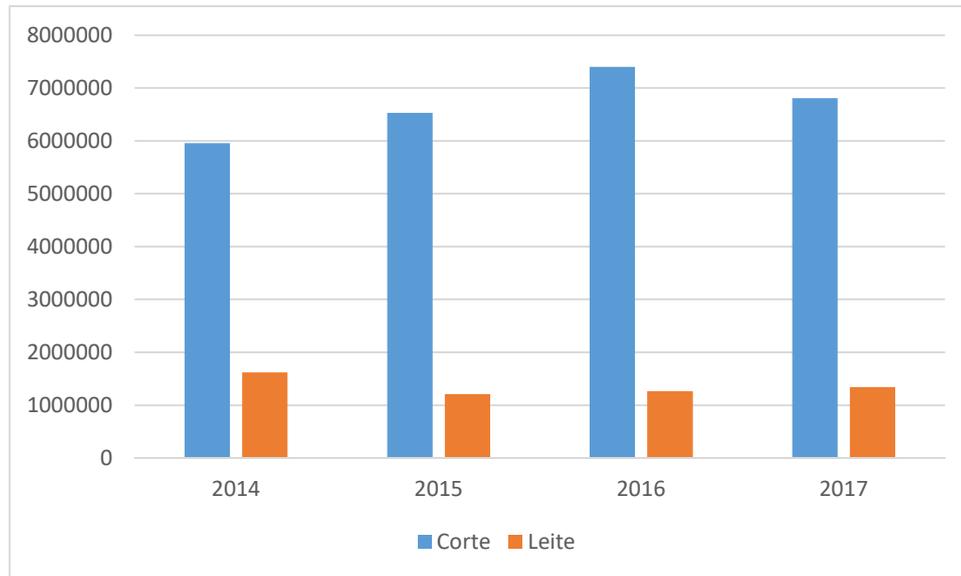
A inseminação artificial tem sido a biotecnologia reprodutiva mais empregada no Brasil, devido a sua facilidade e baixo custo quando comparada as outras técnicas, além de vantagens como reconhecimento paterno, não necessidade da manutenção de touros na propriedade e de animais de reposição, disseminação de material genético superior, controle de doenças sexualmente transmissíveis e padronização do rebanho. Em contrapartida às vantagens da IA, temos a baixa eficiência do método uma vez que falhas na detecção do cio acarretara em intervalos de parto superiores a 365 dias. Segundo SÁ FILHO et al., 2008 a principal limitação no uso da IA referem-se as falhas na detecção do estro, a puberdade tardia e o longo período de anestro pós-parto.

Em diversos lugares do mundo e também no brasil, existem relatos da baixa taxa de serviço em bovinos inseminados artificialmente, em especial em rebanhos *Bos taurus indicus*, cujo comportamento reprodutiva apresenta curiosidades como cio de em sua maioria manifestados no período noturno e de curta duração (GALINA et al., 1996; PINHEIRO et al., 1998; BARUSELLI et all., 2004). Em nosso país as fêmeas bovinas possuem prevalência de 80% de material genético zebuíno, geralmente criado a pasto tais fatores contribuem para um severo comprometimento dos programas de inseminação artificial (BARUSELLI et al., 2009).

A estação do ano interfere na qualidade do sêmen de touros. Esse efeito pode ser reduzido com técnicas de IA, pelo fato do sêmen poder ser coletado em momentos de melhor produção e qualidade e armazenado para ser utilizado em períodos em que os reprodutores não teriam condições de produzir sêmen de qualidade satisfatória (KOIVISTO et al., 2009).

O uso do sêmen sexado permite escolher, com segurança superior a 90%, o sexo dos bezerros, o que ajuda a acelerar a produção de carne e leite (MARQUES, 2010). No gráfico 1 fica evidenciada a evolução e disseminação da técnica de inseminação artificial, uma vez que o número de doses de sêmen produzida tanto para raças de corte quanto para raças de leite aumentou.

Gráfico 1 Produção de sêmen no Brasil (doses)



Fonte: ASBIA 2018

2.6 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

A partir dos entraves encontrados na inseminação artificial convencional, como as dificuldades na detecção do cio, buscou-se alternativas para atingir o padrão de um bezerro/vaca/ano e a forma encontrada foi o uso de protocolos para sincronização do estro e ovulação. Foram utilizados uma grande variedade de fármacos encontrados no mercado para sincronização do estro e ovulação sem que se prejudique a fertilidade do processo, atingindo assim taxas de concepção aceitáveis (SÁ FILHO et al., 2008).

Entende-se por IATF a técnica de controle do ciclo estral de fêmeas bovinas a partir do uso de fármacos específicos, a partir disso pode-se controlar o momento da ovulação definindo o melhor momento para a inseminação. Em sua maioria os protocolos de sincronização visam controlar o desenvolvimento das ondas foliculares, prevenir a ovulação precoce em vacas cíclicas, promover a ovulação de vacas em anestro, promovem a regressão do CL em vacas cíclicas, sincronização do cio e ovulação no final do tratamento (LUCY et al., 2004). Segundo Baruselli 2009 o objetivo de tais protocolos é sincronizar a fase luteínica do ciclo estral, o crescimento folicular e ovulação, possibilitando o uso da IATF até mesmo em animais que não apresentem sinais de estro ou ciclicidade.

O uso de tais protocolos colaborou para a difusão da técnica de IATF não só no Brasil, mas no mundo, permitindo o aprimoramento genéticos dos rebanhos, aumentando portando a produção de carne e leite (BARUSELLI et al., 2009).

A técnica de IATF apresenta vantagens sobre a inseminação convencional uma vez que não há a necessidade de detecção de cio, a mão de obra se faz necessária apenas nos dias de manejo do protocolo, a escolha do momento de inseminação permite a melhor gestão das etapas seguintes como o parto, optando por um momento de melhor qualidade e disponibilidade de forragem influenciando a produção de leite e conseqüentemente o peso a desmama. Tais fatores anteriormente citados como a otimização da mão de obra e a eficiência reprodutiva são fatores contribuintes para a elevação da produtividade e lucratividade de rebanhos comerciais (Vasconcelos e Meneghetti, 2006). No Brasil a IATF cresceu significativamente nos últimos anos, sendo o país considerado o maior mercado de IATF no mundo (MORGAN, 2011)

2.7 TRANSFÊRENCIA DE EMBRIÕES

A técnica de transferência de embriões consiste em colher embriões de um animal doador que serão transferidos ao um segundo animal, classificado como doador para que este complete a gestação (BARUSSELI et al. 2006).

Sendo a fêmea bovina mono-ovulatória, ou seja, apenas um único oócito é liberado durante o ciclo estral, portanto para a TE há um estímulo para ovulação de diversos folículos durante um único ciclo, permitindo assim a fertilização dos mesmos e desenvolvimento destas estruturas até o estágio de blastocisto, afim de inibir a dominância de um único folículo, o que leva a atresia dos demais, e possibilitar a superovulação (SOV) são administradas gonadotrofinas durante o protocolo . Um protocolo de SOV pode por exemplo utilizar o cio natural do animal, tendo início entre 8 a 12 dias após a manifestações do estro, juntamente com o início da segunda onda folicular, a partir disso são administradas oito doses de FSH com intervalo de 12 horas entre cada aplicação. Seguindo de duas aplicações de PGF2 α para promover a luteólise, diminuindo os níveis de P4 e conseqüentemente o pico de LH levando a ovulação (Bó, 2002). Os embriões coletados de um animal superovulado são transferidos a diversos outros animais, portanto a TE tem possibilitado o maior aproveitamento de matrizes de alto mérito genético possibilitando até 10 crias de um mesmo animal durante um ano (WAGTENDONK-DELEEW et al., 2000). Além da disseminação de genética superior a TE também possibilita que animais superiores diagnosticados em algum distúrbio reprodutiva possam reproduzir e não serem condenados ao descarte (Reichenbach et al., 2002).

3 ESTAGIO NA BIOTRAN CONSULTORIO E ASSESSORIA EM MEDICINA VETERINÁRIA

3.1 LOCAL E PERÍODO DO ESTAGIO

O estágio foi realizado na empresa Biotran Consultoria e Assessoria em Medicina Veterinária, figura 2, sendo realizado no período de 2 de setembro a 29 de novembro de 2019.

O estágio teve como supervisor o Dr. Carlos Antônio de Carvalho Fernandes, graduado em Medicina Veterinária pelo Universidade Federal de Viçosa, mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, doutorado e pós-doutorado em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, ocupando cargo de Diretor Geral na empresa.

Figura 2: Biotran Consultoria e Assessoria Veterinária



Fonte: Do autor

3.2 CARATERIZAÇÃO DA BIOTRAN

A Biotran Consultoria e Assessoria em Medicina Veterinária fundada em 1994 atua na área de reprodução animal desempenhando os seguintes papéis dentro desta vertente: capacitação profissional, pesquisa e desenvolvimento de produtos, Biotecnologia da reprodução além de consultoria e assistência na área reprodutiva.

3.3 INSTALAÇÕES DA BIOTRAN

A Biotran Consultoria e Assessoria em Medicina Veterinária apresenta uma estrutura física em um prédio localizado na Rua Tatuin, 447, bairro Residencial Teixeira no município de Alfenas – MG. O prédio possui 2 pavimentos, sendo o inferior composto por hall de entrada,

sala do diretor geral, 2 banheiros, secretaria, escritório, laboratório, laboratório de FIV, cozinha, almoxarifado de equipamentos, almoxarifado de medicamentos. Já no andar superior temos sala do departamento financeiro, sala de reuniões, 2 banheiros, sendo um masculino e outro feminino.

A Biotran Consultoria e Assessoria Veterinária realiza suas atividades em quatro fazendas. A central Biotran localizada no município de Fama – MG, figura 3, tem suas atividades voltadas a cursos e treinamentos.

Figura 3: Central Biotran Fama - MG



Fonte: Google Maps

No município de Alterosa – MG estão localizadas a Fazenda Retiro, figura 4, onde concentram-se animais doadoras e receptoras de embrião.

Figura 4: Fazenda Retiro Alterosa – MG



Fonte: Google Maps

Também no município de Alterosa-MG localizam-se as fazendas Santa Maria, figura 5 e Fazenda Monte Lago, figura 6 que reúnem o gado nelore para fins de cria e realização de estudos de segurança e eficiência de fármacos.

Figura 5: Fazenda Santa Maria Alterosa - MG



Fonte: Google Maps

Figura 6: Fazenda Monte Lago Alterosa - MG



Fonte: Google Maps

4 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTAGIO

4.1 PROTOCOLO DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

O protocolo de IATF consiste em um conjunto de administrações de fármacos no intuito de sincronizar o estro em vários animais, uma vez que não sabemos em qual fase do ciclo estral os animais se encontram, a partir disso tal procedimento concentra as atividades em dias pré-determinados diminuindo assim a mão de obra. A Biotran realiza um protocolo de 3 manejos com duração de 10 dias de acordo com o cronograma demonstrado no quadro 1.

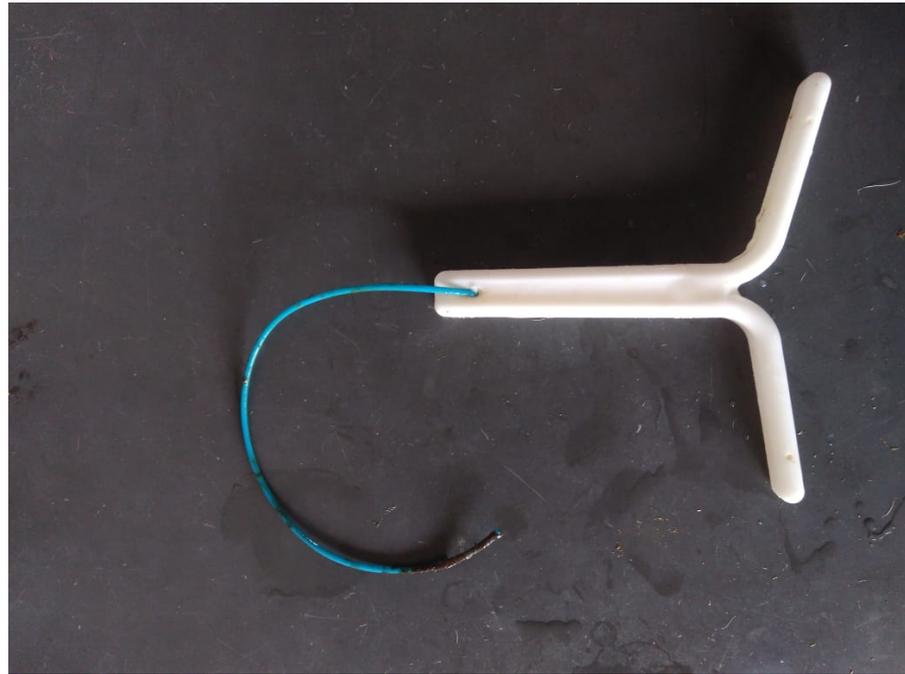
Quadro 1: Protocolo de IATF

Dia de Protocolo	Procedimento
D0	Implante de progesterona + 2mL de Benzoato de estradiol
D8	Retirada do implante + 2ml Estron + 1mL ECP
D10	Inseminação artificial

Fonte: Biotran 2019

Em D0, dia inicial do protocolo, é inserido nos animais um implante de P4, demonstrado na figura 7, para elevar a concentração deste hormônio e inibir o pulso de LH que por ventura acontecesse. Além do implante de P4 neste dia os animais é administrado 2,0ml de benzoato de estradiol(BE) com a função de sincronizar a onda folicular a partir da interrupção da produção de FSH

Figura 7: Implante de P4



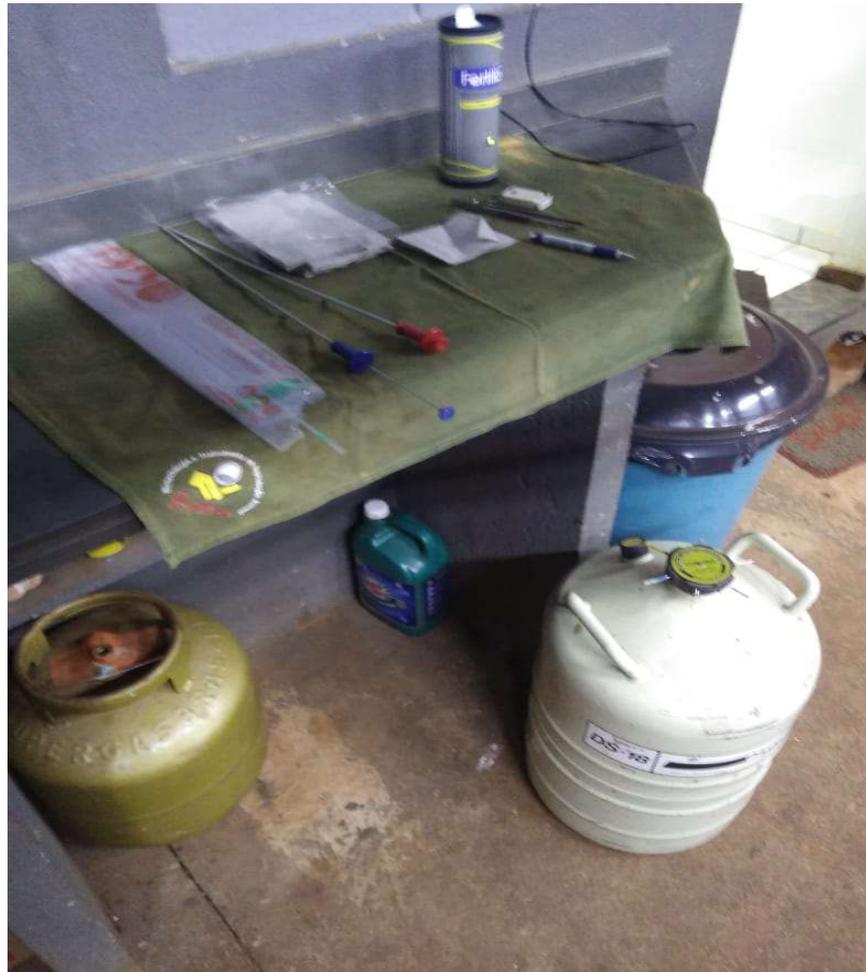
Fonte: Do autor (2019)

Com a aplicação do BE e o implante de P4 é simulado a condição que todas as vacas tivessem apresentado cio nesta data, zerando a onda folicular em todas elas.

Já em D8 acontece a retirada do implante de P4 e aplicação de 2ml de Estron ($PGF2\alpha$), a prostaglandina tem a finalidade de quebrar um corpo lúteo que por ventura esteja presente além da retirada do implante de progesterona baixando a concentração desse hormônio e permitindo o pico de LH que levará a ovulação. Também em D8 há uma aplicação de cipionato de estradiol (ECP) com a função de diminuir a concentração de FSH iniciado em D0 e regredir os folículos pré-antrais. No último dia de protocolo, D10, acontece a inseminação artificial, figura 8.

[

Figura 8: Mesa de trabalho para inseminação artificial



Fonte: Do autor (2019)

4.2 PROTOCOLO DE PREPARAÇÃO PARA SUPEROVULAÇÃO E TRANSFERÊNCIAS

O protocolo de SOV consiste na administração de medicamentos para que no desenvolvimento folicular não haja a regressão dos folículos antrais, que normalmente entrariam em atresia, possam ovular, o cronograma de execução do protocolo é demonstrado no quadro 2:

Quadro 2: Cronograma do protocolo de SOV

Dia de protocolo	Período	
	Manhã	Tarde
D0	Implante P4	
D1	2ml BE + 1ml GnRH	
D5	4ml Foltropin	4ml Foltropin
D6	3ml Foltropin	3ml Foltropin
D7	2ml Foltropin	2ml Foltropin
D8	1ml Foltropin 2ml Estron	1ml Foltropin Retira implante
D9	2ml Gestran	
D10	1ª Inseminação	2ª Inseminação

Fonte: Biotran 2019

Na figura 9 temos um exemplo de ovário superovulado, quando não ocorre dominância folicular e a maioria dos folículos chegam ao estágio pré-ovulatório.

Figura 9: Ovário super ovulado



Fonte: Do autor (2019)

Devido ao fato de ocorrerem mais de uma ovulação neste tipo de procedimento são necessárias duas inseminações, uma no período da manhã e outra pela tarde (figura 10).

Figura 10: Inseminações artificiais no protocolo de SOV



Fonte: Do autor

O protocolo de vacas receptoras, quadro 3, é similar ao realizado em IATF diferindo-se no tempo e na etapa final. A indução da ovulação assim como no protocolo de IATF ocorre em D8, porém o embrião transferido tem 8 dias de vida, portanto é necessário um corpo lúteo da mesma idade, sendo assim a transferência ocorre em D16, enquanto a inseminação ocorre em D10.

Quadro 3: Cronograma do protocolo de receptoras

Dia de protocolo	de	Procedimento
D0		Implante de progesterona + 2mL de Benzoato de estradiol
D8		Retirada do implante + 2ml Estron + 1mL ECP
D15		Avaliação ultrassom
D16		Transferências

Fonte: Biotran 2019

A avaliação de ultrassom no dia antecedente as transferências, têm a intenção de identificar qual dos ovários atingiu a ovulação, além da classificação do CL em relação ao tamanho, uma vez que existe uma correlação do tamanho do CL com a produção de P4 pelo mesmo.

4.4 COLETA E TRANSFERENCIA DE EMBRIÕES

A coleta de embriões é um processo simples, porém demorado, uma vez que é realizado a lavagem de ambos cornos uterinos afim de carrear junto com o líquido os embriões. O processo se inicia com a contenção do animal no tronco, seguido da aplicação de anestesia epidural para que o animal perca tanto o movimento de cauda quanto os movimentos retais, facilitando o manejo e passagem da sonda. Uma sonda é introduzida na vagina do animal até que atinja um dos cornos uterinos, a partir disso a sonda é conectada a um circuito equipo e este dando saída a um filtro. Para efetuar a lavagem utiliza-se uma solução PBS, com a saída do circuito fechado é aberto a entrada, a solução assim entra nos cornos uterinos remove os embriões e na saída os embriões são retidos no filtro. Posteriormente os embriões são rastreados com auxílio de lupa e classificados em: não fecundado, degenerado, mórula 1, mórula 2, blastocisto inicial, blastocisto, blastocisto expandido.

Durante o período de estagio foram realizadas três coletas, seus resultados são apontados no quadro 4.

Quadro 4: Resultados das coletas de embrião

Coleta	Nº de animais	Embriões totais	Embriões viáveis
1	3	55	37
2	9	28	24
3	21	154	83

Fonte: Biotran 2019

4.5 ESTUDO DE PROGESTORONA INJETÁVEL

O objetivo desse estudo é avaliar a eficiência de uma progesterona(P4) injetável de dosagem 70mg por ml, na indução de ciclicidade de vacas em anestro e com baixa condição corporal. Para isso, foram utilizadas 40 fêmeas zebuínas em anestro e com escore de condição corporal (ECC) entre 2 e 3, em uma escala de 0 a 5. Estes animais foram avaliados em D-7 (sete dias antes do tratamento) e classificados quanto a condição reprodutiva, sendo: Tipo 1 ciclando portanto não utilizadas, Tipo 2 com pelo menos 1 folículo dominante de no mínimo 6mm e Tipo 3 em anestro profundo, nesse mesmo dia (D-7), foi administrado uma dose de 2 mg de benzoato de estradiol para sincronização da emergência de uma nova onda folicular em todos os animais. A randomização foi feita com base nessa classificação e distribuída entre os seguintes tratamentos: Trat1 5ml (n=15); Trat2 2,5ml (n=15) e Trat3 controle (n=10).

O estudo segue o cronograma demonstrado no quadro 5, com amostras de sangue colhidas em D0, D1, D3, D5, D7 e D9 para determinação da curva de progesterona (P4) nos três grupos de tratamento. O sangue foi colhido pela veia ou artéria coccígea e analisado por Eletroquimioluminescência.

Além disso, imagens de ultrassonografia foram realizadas em D0, D1, D3, D5, D7 e D9, para acompanhamento do desenvolvimento folicular dos animais e também em D14, D21 e D28, para verificação do percentual de animais que entraram em ciclicidade nesse período, nos diferentes grupos de tratamento.

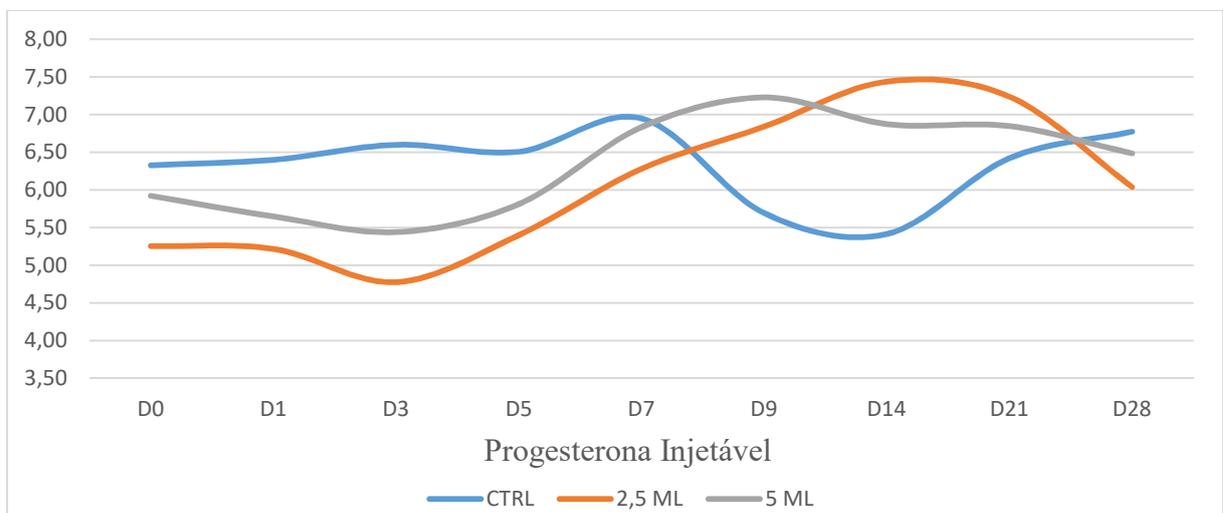
Quadro 5: Cronograma do estudo de P4 injetável

Dia de estudo	Atividade realizada
D-7	Pesagem, ECC, avaliação ovários, 2mg benzoato estradiol
D0	Randomização
D1	Coleta de sangue, avaliação ovário
D3	Coleta de sangue, avaliação ovário
D5	Coleta de sangue, avaliação ovário
D7	Coleta de sangue, avaliação ovário
D9	Coleta de sangue, avaliação ovário
D14	Avaliação ovário
D21	Avaliação ovário
D28	Avaliação ovário

Fonte: Biotran 2019

Os resultados do estudo podem ser visualizados no gráfico 2, apontando a eficiência do produto como indutor de ciclicidade em animais com baixo ECC uma vez que o diâmetro do maior folículo nos grupos tratados é maior a partir de D7 do que grupo controle, além do fato de que a partir de D0, o dia do tratamento, o diâmetro dos folículos diminuiu indicando a regressão dos mesmos e a emergência de uma nova onda.

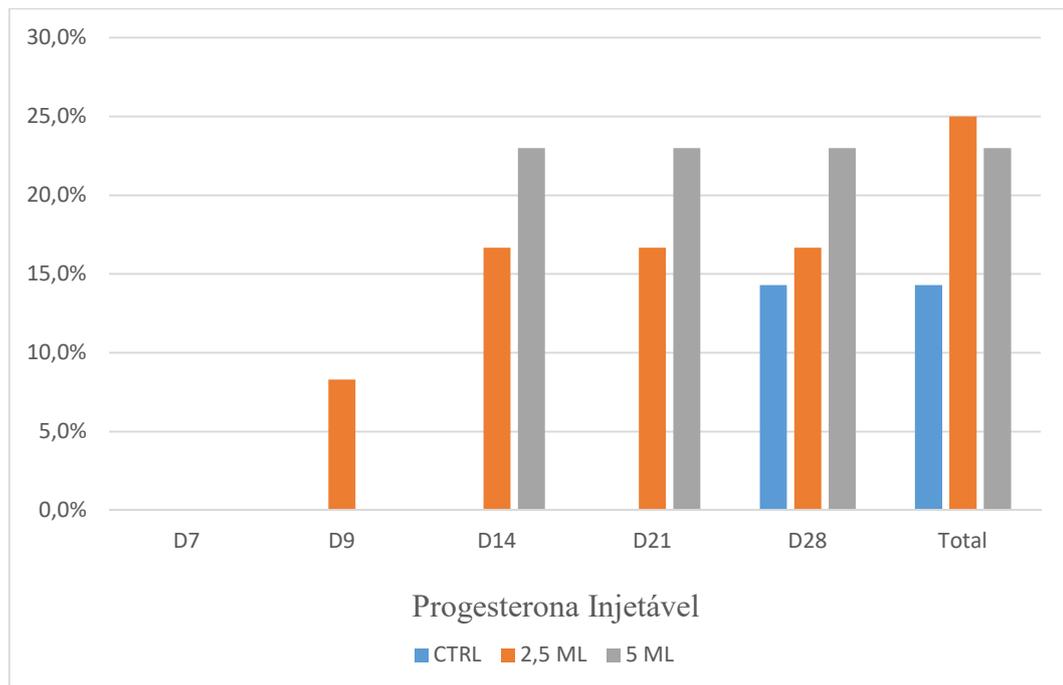
Gráfico 2: Diâmetro médio do maior folículo ao longo do estudo.



Fonte: Biotran 2019

É possível também comparar os dois tratamentos sendo tratamento 2, com 2,5mL do produto, mais eficiente que o tratamento 3, 5mL de produtos, uma vez que ambos apresentam resultados semelhantes quanto ao diâmetro médios dos folículos e o tratamento 2 teve maior percentual de vacas que entraram em ciclicidade, com vacas ciclando a partir de D9 enquanto as vacas entraram em ciclicidade no tratamento 3 a partir de D14, como demonstra o gráfico 3.

Gráfico 3: Percentual de vacas que entraram em ciclicidade



Fonte: Biotran 2019

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir do estágio realizado na Biotran Consultoria e Assessoria Veterinária pude ampliar e adquirir novos conhecimentos práticos e teóricos relacionados a reprodução de bovinos amplificando assim o entendimento de como atuar nesta área tão importante na cadeia produtiva da bovinocultura uma vez que tal área é de suma importância para o sucesso e continuidade da pecuária.

Baseado nas experiências proporcionadas pelo estágio, fica evidente que mesmo com todos avanços relacionados a reprodução, ainda é necessário muito estudo e treinamentos práticos na área, uma vez que existem no mercado uma enormidade de produtos para o mesmo fim, estar sempre atento quanto a dosagem e formas de aplicação dos fármacos utilizados nos protocolos e o intervalo de tempo entre cada etapa para que os processos não sejam inúteis.

Também há de se ressaltar a pouca abertura da área de reprodução para o profissional Zootecnista, uma vez que a maioria dos procedimentos relacionados a biotecnologia reprodutivas, como por exemplo coleta e transferências de embrião, fertilização *in vitro* são de prática exclusiva do médico veterinário, mesmo o Zootecnista possuindo o mesmo conhecimento teórico nas áreas de anatomia e fisiologia da reprodução bastando apenas agregar a prática em tal atividade.

Estagiar na Biotran foi muito gratificante, pois fui muito bem recebido pela equipe e sempre foram solícitos e pontuais a ajudar diante das minhas dificuldades uma vez que a empresa atua em uma área pouco trabalhada durante a graduação. Assim pude compreender a importância da atuação do zootecnista na reprodução, pois sem reprodução não há produção.

REFERÊNCIAS

- ABIEC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNES. **Perfil da Pecuária no Brasil. 2018.** Disponível em: <<http://www.abiec.com.br/control/uploads/arquivos/sumario2019portugues.pdf>>. Acesso em: 19 set. 2019.
- ADAMS, G.P.; KOT, K.; SMITH, C.A.; GINTHER, O.J. **Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates in heifers.** Journal of Animal Science, v.73, p.267-275, 1993.
- ASBIA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. **Index ASBIA 2017.** Disponível em: <http://www.asbia.org.br/certificados/index/>. Acesso em 15 set. 19.
- BARROS, M. P. **O Impacto da IATF no desenvolvimento da pecuária brasileira.** Revista AG Leilões, n.109, 2007. Disponível em <<http://www.edcentaurus.com.br/materias/ag.php?id=964>>. Acesso em 20 de setembro de 2019.
- BARUSELLI, P. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes.** Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Reprodução Animal, Universidade de São Paulo. 2000
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES M. O. **Técnicas de manejo para aperfeiçoar a eficiência reprodutiva em fêmeas bos indicus.** Grupo de Estudo de Nutrição de Ruminantes – Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal - FCA – FMVZ – Unesp, Botucatu, São Paulo, 2004, p.18.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; GONÇALVES, R.L.; REVA, D. **Manual Prático de Inseminação Artificial em Tempo Fixo,** Curitiba: Biogenesis do Brasil Ltda., 2004. 56 p. [Manual]
- BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; MARQUES, M.O. et al. **Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise retrospectiva).** In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 32., 2004, Barra Bonita. **Anais...** Barra Bonita: SBTE, 2004b. p.228 (supl.).

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Banco de dados Agregados**. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/ppm/quadros/brasil/2018>. Acesso em: 05 set. 2019

IRELAND J. J, ROCHE J. F. **Development of nonovulatory antral follicles in heifers. Change in steroids in follicular fluids and receptors for gonadotrophins**. *Endocrinology* 12: 150-156. 1987

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L.; SOLER, J.M.P **Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle**. *Theriogenology*, v.47,p.1489-1505, 1997.

FORTUNE, J.E. **Ovarian follicular growth and development in mammals**. *Biology of Reproduction*, v.50, p.225-232, 1994.

GALINA, C.S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.465-470, 1996.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v.52, p.1079-1093, 1999.

KOIVISTO, M.B; COSTA M.T.A; PERRI, S.H.V; VICENTE, W.R.R. **The Effect of Season on Semen Characteristics and Freezability in *Bos indicus* and *Bos taurus* Bulls in the Southeastern Region of Brazil**. *Reproduction in Domestic Animals* 44 (4), 587-592. 2009

LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THATCHER, W. W. Factors that ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**,v.70, p.3615-3626, 1992.

LUCY, M.C; MCDUGALL, S; NATION, D.P. **The use of hormonal treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture-based management systems**. *Animal Reproduction Science*, v. 82-83, p. 495-512. 2004

MARQUES, P. C. **Tecnologia pode ajudar setor a acelerar ganhos da década**. Folha de São Paulo, SP. 02/06/2010. Suplemento Mercado, p. B9.

MORGAN, A. IATF nos rebanhos bovinos tem inúmeras vantagens. 2011. Disponível em: <http://www.cpt.com.br/noticias/iatf-rebanhos-bovinos-vantagens-gado-corte-leite>. Acesso em: 25 set. 19.

MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, p.523-533, 1990.

ONU - ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **World Prospect Population**. Disponível em: <https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/>. Acesso em 07 set. 19.

- PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A. et al. **Estrous behaviour and the estrus-toovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 α or Norgestomet and estradiol valerate.** *Theriogenology*, v.49, p.667-681, 1998.
- RAJAKOSKI, E. **The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal cyclical, and left-right variations.** *Acta Endocrinol (Suppl.)* 52: 1-68, 1960
- REICHENBACH, H.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P. F.; SANTOS FILHO, A. S.; ANDRADE, J. C.O. **Transferência e criopreservação de embriões bovinos.** In: GONSALVES, P. B. D.;
- SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. **IATF em novilha.** SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA. 3, 2008, 85 Londrina. *Anais...* Londrina, 54-67p., 2008.
- SARTORELLI, E.S.; CARVALHO, L.M.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J.; BARROS, C.M. **Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows.** *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.
- SIROIS J.; FORTUNEJ.E. **Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography.** *Biology of Reproduction*, n.39, p.308-317, 1998.
- UNITED STATES DEPARTAMENT OF AGRICULTURE. **Annual Livestock Report Brazil 2019.** Disponível em: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/report/downloadreportbyfilename?filename=Livestock%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_9-5-2019.pdf. Acesso em 07 set. 19.
- VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M. **Sincronização de ovulação como estratégia para aumentar a eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas, em larga escala.** In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 5., 2006, Viçosa, MG. *Anais...* Viçosa: UFV, 2006, p.529-541.
- WAGTENDONK-DELEEUW, A.M.; MULAART, E.; DE ROOS, J.S. et al. **Effects of different reproduction techniques: al, MOET or IVP, on health and welfare of bovineoffspring.** *Theriogenology*, v.53, n.2, p.575-597, (2000).
- WOLFENSON, D.; INBAR, G.; ROTH, Z.; KAIM, M; BLOCK, A.; BRAW-TAL, R. **Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers.** *Theriogenology*, v.62, p.1042-1055, 2004.