

VICTOR ENRIQUE GOMEZ LEON

**BIOMETRIA E MUDANÇAS MORFOLÓGICAS UTERINAS E OVARIANAS EM
FÊMEAS BOVINAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

L586b
2014

Gomez Leon, Victor Enrique, 1988-

Biometria e mudanças morfológicas uterinas e ovarianas em fêmeas bovinas / Victor Enrique Gomez Leon. – Viçosa, MG, 2014.

xii, 97f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndices.

Orientador: Laércio dos Anjos Benjamim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Reprodução bovina. 2. Ultrassonografia reprodutiva.
3. Biometria Uterina. 4. Espessura endometrial. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Mestrado em Medicina Veterinária. II. Título.

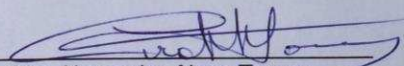
636.082

VICTOR ENRIQUE GOMEZ LEON

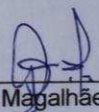
**BIOMETRIA E MUDANÇAS MORFOLÓGICAS UTERINAS E OVARIANAS
EM FÊMEAS BOVINAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

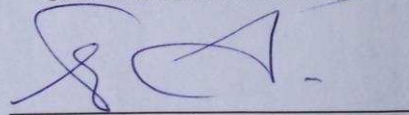
APROVADA: 24 de julho de 2014.



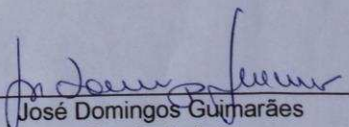
Ciro Alexandre Alves Torres



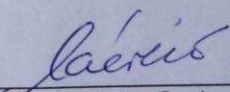
Giancarlo Magalhães dos Santos



Eduardo Paulino da Costa



José Domingos Guimarães
(Coorientador)



Laércio dos Anjos Benjamin
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força, fé e foco, que dão suporte a tudo o que se objetiva, e por cada benção que coloca na minha vida, sejam pessoas ou oportunidades.

Aos meus pais, Henrique e Monica, sem os quais nenhum dos meus propósitos poderiam ter sido alcançados. Obrigado pelos valores e a criação que me ofereceram, mas também pela ajuda, disposição, apoio incondicional e, principalmente, amor que de igual forma que meus irmãos Maria mo, Pipe e Cata sempre me ofereceram. Aos meus avôs Victor e Miriam e tios, os quais são parte fundamental de mim, obrigado pelo amor e apoio, por ficarem sempre de olho em mim. A todos, obrigado por serem a motivação da minha vida.

Aos amigos que me apoiaram, contribuíram ao trabalho ou que tornaram mais agradável o mestrado no Brasil: Rafael, Faider, Karen, Cardona, Carrascal, Erly, Javier e Gabi; Thaianny, André, Luan, Soninha e Juliana.

Ao Giancarlo Magalhães, pelas orientações e ajudas no projeto.

Agradeço especialmente a Jhonata Vieira, Denise Silva e Jose C. Montes, pessoas que me ajudaram e acompanharam com grandes suportes e ensinamentos não somente no trabalho, como também de forma importante na minha vida.

Aos meus amigos incondicionais na Colômbia que ficam torcendo sempre por mim e viraram quase irmãos: Carlos, Daniel, Edgar, Javyer, Juan Diego, Julio, Luis E., Rafael, Ramiro e Rodrigo.

Aos meus amigos e mestres Jose Carlos Gonzalez e Jair Perez, pelos conselhos, ensinamentos, exemplos e apoio.

A Wallace Tassis, Vagner, Itamiro, e a todos os funcionários de cada retiro da Fazenda Derribadinha, por terem acolhido o presente estudo, sempre com disponibilidade, sem se importarem com horários e esforços, como também pela disponibilização da infraestrutura, animais e recursos da fazenda.

Ao professor Marcos Marcondes pela disponibilização dos animais da Unidade de Ensino Pesquisa e Extensão de Gado de Leite da UFV.

Ao programa de Pós-graduação do Departamento de Veterinária, especialmente a Rosi, Bete e ao professor Nero, pelo acolhimento.

Aos professores Joaquim Patarroyo e Marlene Vargas Vilorio pelos

conselhos e orientações oferecidas.

Agradeço especialmente aos professores Laércio dos Anjos Benjamin e José Domingos Guimarães (JD), pelo acolhimento, recursos disponibilizados, confiança depositada em mim, ensinamentos, orientações e exemplos que sempre estiveram prontos a me oferecer, acrescentando meus conhecimentos.

Aos membros da banca avaliadora, pelas sugestões feitas ao trabalho.

Ao programa de estudante - Convênio de Pós-Graduação (PEC-PG), e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de estudo concedida.

SUMARIO

	Pagina
LISTA DE TABELAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Puberdade.....	3
2.2. Fatores que interferem na puberdade.....	4
2.2.1. <i>Idade e peso corporal</i>	4
2.2.2. <i>Escore de condição corporal</i>	5
2.2.3. <i>Altura de garupa</i>	6
2.2.4. <i>Genética</i>	6
2.3. Desenvolvimento dos órgãos genitais.....	7
2.4. Útero bovino.....	8
2.5. Alterações uterinas durante o ciclo estral.....	9
2.5.1. <i>Fase folicular</i>	10
2.5.2. <i>Fase luteal</i>	10
2.6. Hormonioterapia.....	11
2.7. Ultrassonografia uterina.....	12
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	13
CAPITULO 1. Metodologia de avaliação da biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos)	20
RESUMO.....	20
INTRODUÇÃO.....	22
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
RESULTADOS.....	27
DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
CAPITULO 2. Biometria uterina e ovariana de novilhas da raça Holandesa na fase peripuberal e na maturidade sexual	35
RESUMO.....	35
INTRODUÇÃO.....	36
MATERIAL E MÉTODOS.....	37
RESULTADOS.....	39
DISCUSSÃO.....	43
CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
CAPITULO 3. Correlações da biometria uterina (diâmetro e espessura endometrial dos cornos uterinos) com a fase do ciclo estral em novilhas e vacas submetidas a diferentes protocolos de sincronização	54
RESUMO.....	54
INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAL E MÉTODOS.....	57
RESULTADOS.....	62
DISCUSSÃO.....	81
CONCLUSÕES.....	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	92
CONSIDERAÇÕES FINAIS	96

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

Tabela 1. Escore de desenvolvimento dos órgãos genitais na espécie bovina (mm).	7
Tabela 2. Modificação da tabela de escore de desenvolvimento dos órgãos genitais na espécie bovina, proposta por Anderson et al. (1991) (mm).	8
CAPITULO 1. Metodologia de Avaliação da Biometria Uterina (Espessura Endometrial e Diâmetro dos Cornos Uterinos)	
Tabela 1. Valores médios e desvio padrão (mm) da espessura endometrial e o diâmetro uterino <i>in vivo</i> e <i>post mortem</i> de vacas da raça Holandesa, criadas em regime <i>Losing-House</i>	27
Tabela 2. Valores médios e desvio padrão (mm) da espessura endometrial e diâmetro do corno uterino <i>in vivo</i> e <i>post mortem</i> de acordo com a região do corno uterino de vacas da raça Holandesa criadas em regime <i>Losing-House</i>	28
Tabela 3. Valores médios e desvio padrão (mm) da espessura endometrial do diâmetro dos uterinos <i>in vivo</i> , de acordo com a região do corno uterino de vacas da raça Holandesa criadas em regime <i>Losing-House</i>	29
CAPITULO 2. Biometria Uterina e Ovariana de Novilhas da Raça Holandesa na Fase Peri-Puberal e na Maturidade Sexual	
Tabela 1. Valores médios e desvio padrão de altura e peso corporal, biometria uterina e ovariana (mm) de novilhas da raça Holandesa, criadas em regime de <i>free-stall</i> divididas faixas etárias em classes.	40
Tabela 2. Correlações Simples de Pearson entre as características ponderais, (altura e peso corporal) e reprodutivas (biometria uterina e ovariana) de novilhas da raça Holandesa entre os 9 e 20 meses, criadas em manejo de <i>free-stall</i>	41
Tabela 3. Correlações Simples de Pearson entre as características ponderais, (altura e peso corporal) e reprodutivas (biometria uterina e ovariana) de novilhas da raça Holandesa, nas classes 1 e 2, criadas em manejo de <i>free-stall</i>	42
Tabela 4. Correlações Simples de Pearson entre as características ponderais, (altura e peso corporal) e reprodutivas (biometria uterina e ovariana) de novilhas da raça Holandesa, nas classes 3 e 4, criadas em manejo de <i>free-stall</i>	43
CAPITULO 3. Correlações da Biometria Uterina (Diâmetro e espessura endometrial dos cornos uterinos) com a Fase do Ciclo Estral em Novilhas e Vacas Submetidas a Diferentes Protocolos de Sincronização	
Tabela 1. Protocolos de sincronização em novilhas da raça Nelore, criadas extensivamente.	58
Tabela 2. Protocolos de sincronização em vacas adultas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente.	58
Tabela 3. Frequência da presença de corpos lúteos em novilhas da raça Nelore, criadas extensivamente e avaliadas no dia de início de três protocolos de sincronização	62
Tabela 4. Valores médios e desvio padrão do peso, escore de condição corporal e biometria uterina e ovariana, em mm, de novilhas pre-púberes da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização.	63
Tabela 5. Correlações Simples de Pearson entre os diferentes dias de sincronização para ECC, peso e biometria dos cornos uterinos em novilhas da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização	64

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização, avaliadas no dia da colocação do DIP.....	65
Tabela 7. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana, em mm, de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização, avaliadas no dia da retirada do DIP.....	66
Tabela 8. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização, avaliadas no dia da OPU.	67
Tabela 9. Valores médios e desvio padrão por manejo das biometrias uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização.	67
Tabela 10. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 1 de sincronização	68
Tabela 11. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 2 de sincronização	68
Tabela 12. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 3 de sincronização	69
Tabela 13. Frequência da presença de corpos lúteos em vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e avaliadas no dia de início de seis protocolos de sincronização	69
Tabela 14. Valores médios e desvio padrão do escore de condição corporal e biometria uterina e ovariana em mm de vacas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.	70
Tabela 15. Correlações Simples de Pearson entre os diferentes dias de sincronização para ECC, idade, biometria dos cornos uterinos e taxa de crescimento folicular em vacas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.....	71
Tabela 16. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização, avaliadas no dia da colocação do DIP.....	72
Tabela 17. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização, avaliadas no dia da retirada do DIP.....	73
Tabela 18. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização, avaliadas no dia da OPU.	74
Tabela 19. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.	74
Tabela 20. Correlações Simples de Pearson entre os diferentes dias de sincronização para concentrações séricas de progesterona, biometria dos cornos uterinos e estruturas ovarianas, tamanho e classificação ovocitária e taxa de crescimento folicular em vacas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.....	75
Tabela 21. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 4 de sincronização.	76

Tabela 22. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 5 de sincronização.	76
Tabela 23. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 6 de sincronização.	77
Tabela 24. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 7 de sincronização.	77
Tabela 25. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 8 de sincronização.	78
Tabela 26. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 9 de sincronização.	78
Tabela 27. Valores médios da taxa de crescimento folicular (mm), qualidade ovocitária (escore I a IV) e taxa de prenhes (%) em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas a diferentes protocolos de IATF e criadas em regime extensivo.	79
Tabela 28. Correlações Simples de Pearson das biometrias dos cornos uterinos, e espessura endometrial, taxa de crescimento folicular e classificação ovocitária em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas a nove protocolos de sincronização, de acordo com os dias de manejo.	80
Tabela 29. Correlações Simples de Pearson das biometrias dos cornos uterinos, espessura endometrial e estruturas ovarianas em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas ao protocolo de IATF, obtidas na ocasião do início do protocolo de sincronização.	80
Tabela 30. Correlações Simples de Pearson das biometrias dos cornos uterinos, espessura endometrial e estruturas ovarianas em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas ao protocolo de IATF, obtidas na ocasião da retirada do dispositivo intravaginal do protocolo de sincronização.	81
Tabela 31. Correlações Simples de Pearson das biometrias dos cornos uterinos, espessura endometrial e estruturas ovarianas em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas ao protocolo de IATF, obtidas na ocasião da aspiração folicular do maior folículo.	81

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Posicionamento transversal do transdutor, sobre os cornos uterinos na região 1 (A); cornos uterinos seccionados transversalmente na região 1; (B); delineamento das camadas uterinas na peça <i>post mortem</i> (C).	26
FIGURA 2. Imagem ultrassonográfica <i>in vivo</i> (A) e cornos uterinos <i>post mortem</i> (B) seccionados transversalmente de úteros de vacas da raça Holandesa; Os X delimitam a espessura da camada endometrial em ambos cornos.	27
FIGURA 3. Aspecto histológico (A) e ultrassonográfico (B) do ligamento largo do útero (a), das camadas serosas (b), muscular longitudinal (c), e vascular (d), e do lume do útero (é). Fonte: A: Dellmann e Brown (1982); B: Arquivo pessoal.	32

RESUMO

GOMEZ LEON, Victor Enrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2014. **Biometria e mudanças morfológicas uterinas e ovarianas em fêmeas bovinas**. Orientador: Laércio dos Anjos Benjamin. Coorientador: José Domingos Guimarães.

Crítérios de avaliação diretamente relacionados à capacidade sexual da fêmea devem ser utilizados na prática de rotina da pecuária, permitindo avaliar o desenvolvimento e a função dos órgãos que controlam a reprodução. Dentre os órgãos genitais, o útero tem funções essenciais na reprodução sexual dos animais, controlando a função luteal, além de interferir no transporte e capacitação dos espermatozoides, como também na implantação e desenvolvimento inicial do embrião; alojamento, nutrição e proteção do feto até o final da gestação. Dessa forma, na primeira etapa deste estudo foram analisadas imagens ultrassonográficas de cortes transversais do útero. Na primeira região uterina (da bifurcação interna dos cornos uterinos até o início da curvatura maior), na segunda região (a partir da curvatura maior até pouco antes do ápice do corno) e na terceira região (ápice da extremidade livre do corno) no útero de cinco fêmeas bovinas sexualmente maduras da raça Holandesa, criadas em manejo de *Losing-House*. As medidas foram obtidas no animal *in vivo* e no órgão genital *post mortem*, com a finalidade verificar a acurácia das interpretações e medidas da biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos). Todos os dados quantitativos foram analisados por ANOVA e as médias comparadas pelos testes de Tukey ou Duncan ou então pela análise não paramétrica com as médias comparadas pelo teste de Kruskal Wallis ou Wilcoxon. Considerou-se a probabilidade de 5 % de erro em todas as análises. Não houve diferença entre os valores da biometria uterina para as mensurações no animal *in vivo* e no órgão genital *post mortem* ($P>0,05$). Os valores médios para as mensurações no animal *in vivo*, na região um, para diâmetro do corno uterino esquerdo ($21,0\pm 2,6$ mm), espessura endometrial do corno esquerdo ($10,39\pm 4,9$ mm), diâmetro do corno uterino direito ($22,9\pm 2,8$ mm), e espessura endometrial do corno direito ($10,8\pm 5,2$ mm), se mostraram semelhantes aos valores obtidos nas outras duas regiões. A obtenção e correta interpretação de imagens transversais da primeira região do

útero (início da bifurcação uterina até a curvatura maior) por meio da ultrassonografia transretal bovina, mostra-se uma metodologia com alta acurácia e eficiente para avaliar a biometria uterina (espessura e diâmetro dos cornos uterinos). Posteriormente, com ajuda da ultrassonografia foram estudados os desenvolvimentos ponderal e sexual de 38 fêmeas da raça Holandesa, criadas em *Tie-Stall*, nas fases de pré-puberdade, puberdade e maturidade sexual (nove a 20 meses de idade). As fêmeas foram avaliadas a cada quinze dias por um período de dois meses, sendo mensurados peso e altura, e as mudanças que aconteceram na biometria uterina por meio da ultrassonografia via transretal. Os animais foram divididos por classes com intervalos de 3 meses de idade, com a finalidade de abranger os eventos reprodutivos durante a fase de crescimento. As alturas dos animais da classe 3 e 4 foram semelhantes entre si ($P > 0,05$) e maiores dos animais das classes 1 e 2 ($P < 0,05$), apresentando alta correlação com o peso corporal ($r = 0,8$). O útero das novilhas apresentou diâmetros maiores do corno esquerdo nos animais das classes 3 e 4 ($P < 0,05$). A espessura endometrial do corno direito foi maior em animais da classe 4 ($P < 0,05$). Concluiu-se que o desenvolvimento ponderal e o sexual ocorrem de forma assincrônica nos animais mais jovens (9 -11 meses), sendo o ponderal mais acelerado; a puberdade de fêmeas da raça Holandesa nas condições tropicais se manifestam entre as faixas etárias de 12 a 15 meses de idade causando conseqüentemente atraso na maturidade sexual; uma vez atingida a puberdade o desenvolvimento ponderal e sexual é sincrônico e o aumento da espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos se maximizam. Na última etapa experimental foram estudadas as alterações da biometria uterina nas fases do ciclo estral de 172 novilhas induzidas à puberdade e 90 vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo, submetidas a diferentes protocolos de sincronização, aspirando o ovócito do folículo dominante no dia e horário correspondente à IATF. Posteriormente, os animais foram inseminados a cio detectado e submetidos ao manejo de monta natural. Os protocolos de inseminação artificial mostraram valores satisfatórios para indução de puberdade e gestação nos estros subsequentes em novilhas pré-púberes (68 %), e eficientes em vacas adultas solteiras da raça Nelore (98 %). Os protocolos de sincronização conseguiram induzir as mudanças uterinas relatadas na literatura, concluindo que no ciclo estral

bovino, durante a fase folicular e sob o efeito do estrógeno, são obtidas imagens ultrassonográficas hipo-ecogênicas da camada endometrial com aumento da espessura da mesma com imagens anecogênicas do lume uterino em algumas ocasiões. Na fase luteal e sob a influência da progesterona, são obtidas imagens ultrassonográficas da camada endometrial hiper-ecogênicas e diminuição na espessura da mesma. O diâmetro dos cornos uterinos de novilhas nulíparas e vacas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo, mostraram-se próximos aos valores de referência (≥ 20 mm) preconizados para fêmeas maduras sexualmente, aptas à reprodução.

ABSTRACT

GOMEZ LEON, Victor Enrique, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2014. **Uterine biometry and morphological uterine and ovarian changes in bovine females.** Adviser: Laércio dos Anjos Benjamin. Co-Adviser: José Domingos Guimarães.

Assessment criteria directly related to sexual ability of the female, should be used in routine practice of Brazilian cattle, allowing the evaluation of development and function of organs that controls reproduction. Within all reproductive organs, the uterus has essential roles in sexual reproductive animals, controlling luteal function, as well as interfering in the transport, capacitation of sperm, and initial embryo implantation and development, housing, nurturing and protecting the fetus until calving. Thus, at the first stage of the study, were analyzed ultrasound images of cross sections at first uterine region (uterine internal bifurcation, and horns, until the beginning of the greater curvature), at second uterine region (from the greater curvature until just before the tip of the horn) and at third region (the free end of the horn) of five sexually mature Holstein female cattle uterus, created and managed in *Losing-House*. *In vivo* and *post mortem*, animal reproductive organs, were measure with the purpose of verify the accuracy of the interpretation and measures of uterine biometry (diameter and endometrial thickness of the uterine horns), standardizing the methodology. Quantitative data were analyzed by ANOVA and the means compared by Tukey test or Duncan test or by the nonparametric analysis with Kruskal Wallis test or Wilcoxon test. It was considered the probability of 5 % error in all analyzes. There was no difference between the values of the uterine biometry for measurements in animals *in vivo* and in reproductive organs *post mortem* ($P>0.05$). Mean values for measurements *in vivo* animals, at first region, for left uterine horn diameter (21.0 ± 2.6 mm), left horn endometrial thickness (10.4 ± 4.9 mm), right uterine horn diameter (22.9 ± 2.8 mm), and right horn endometrial thickness (10.8 ± 5.2 mm) were similar to values obtained in the other two regions ($P>0,05$). The values obtained demonstrate the technique's efficiency and high accuracy measuring uterine biometry from ultrasound images. The technique shown to be easily to perform. Thereafter, changes in the uterine biometry of 38 Holstein heifers, created in *Tie-Stall*, in the pre-puberty, puberty and

sexual maturity were studied and evaluated by transrectal ultrasonography technique, every two weeks for a period of two months. The animals were divided into classes at every 3 months old, in order to encompass the reproductive events during the growth of the animals. At first class the Holstein heifers showed asynchronic growth, being found positive correlations in weight and height, and negative between weight and evaluated sexual characteristics. The heifers reached puberty between 12 and 15 months of age, fact that maximized the development of the uterine horns, endometrial thickness, and reproductive function at subsequent class. In the last experimental stage, uterine biometry changes at the estrous cycle of heifers 172 pubertal-induced and 90 single adult Nellore cows, raised in extensive managements, were studied under different protocols of Fixed-Time Artificial Insemination and the day of FTAI was aspirated the oocyte from the dominant follicle of every female. Afterwards the animals were submitted to natural mating. The artificial insemination protocols showed satisfactory values for induction of puberty and pregnancy in pre-pubertal heifers (68 %), and efficient for single adult Nellore cows (98 %). FTAI protocols can induce uterine changes reported in the literature, within the phases of the estrous cycle (under progesterone concentrations the endometrium has a glandular epithelium thickened, branched, folded and increased secretion of the glands (Producing ultrasound endometrial images thinner and increased echogenicity). However, it has not been proven protocols effect in pregnant rates, follicular growth rate and oocyte quality.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um rebanho bovino de aproximadamente 213 milhões de animais, sendo o maior exportador de carne e o terceiro maior produtor de leite mundial. O rebanho brasileiro é composto de 80 % por animais zebuínos, principalmente os da raça Nelore, ou anelorados. Entretanto, é superado por países que possuem melhor eficiência nos seus rebanhos. Neste sentido existem muitos aspectos a explorar e melhorar no maior rebanho bovino comercial do mundo (CONAB - IGBE, 2013; IGBE, 2013; CORDENONSI et al. 2012).

Segundo Coulter et al. (1991) a reprodução é 10 vezes mais importante que o melhoramento e cinco vezes mais importante que a melhoria de carcaças, sendo que a eficiência econômica da pecuária está extremamente vinculada à reprodução, pelas lactações geradas e pelo número de bezerros destinados à produção de carne ou reposição do rebanho (LIMA, 2011).

A produção de maior número de gestações está intimamente ligada ao período de vida reprodutiva das fêmeas. Desta forma, a idade em que a fêmea bovina se torna apta à reprodução é um fator muito importante neste processo. A idade média à puberdade para raças taurinas varia entre 8 e 12 meses e nas zebuínas entre 22 a 36 meses de idade, gerando parto desses animais aos 20 e 30 meses para cada grupo. Porém, a idade média ao primeiro parto do rebanho bovino brasileiro se encontra acima dos 40 meses de idade. Essas baixas eficiências reprodutivas acarretam perdas econômicas para o produtor e para a indústria da pecuária nacional (ALMEIDA et al., 2013).

As novilhas devem ter uma concepção adequada considerando a necessidade da redução da idade à maturidade sexual. Assim, fatores como a nutrição adequada, aliada à genética, são os principais fatores responsáveis por essa eficiência (MARSON et al., 2004; EIMIRICK et al., 2009).

Dessa forma, critérios de avaliação diretamente relacionados à capacidade sexual da fêmea devem ser utilizados na rotina da pecuária brasileira, permitindo avaliar o desenvolvimento e a função dos órgãos que controlam a reprodução. Nesse sentido, a ultrassonografia ocupa um lugar de destaque auxiliando ditas avaliações.

No presente estudo objetivou-se estabelecer e padronizar uma metodologia

para realizar as biometrias e sua relação com as funções uterinas. Baseando-se em avaliações do diâmetro e espessura endometrial dos cornos uterinos nas fases pré-puberal, puberal, maturidade sexual e sua relação com as fases do ciclo estral em animais das raças Holandesa e Nelore.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Puberdade

A puberdade é um processo gradual de maturação que se inicia antes do nascimento e continua no período pré e peripuberal (MCDONALD, 2003).

A novilha somente é considerada púbere quando está apta a liberar o gameta ou ovular e exibir comportamento sexual (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Assim, o conceito de “puberdade” na fêmea, segundo diversos autores, é a idade que manifesta o primeiro estro acompanhado de ovulação ou o início da ciclicidade reprodutiva (WILTBANK et al., 1969; JAINUDEEN e HAFEZ, 1993). O início da puberdade se relaciona ao primeiro estro da novilha, seguido por uma fase lútea fisiológica. Na fêmea bovina, esta fase envolve a transição de um período de inatividade ovariana para outro, no qual as ovulações ocorrem de forma cíclica (ALMEIDA et al., 2013).

Silva Filho et al. (2007) relatam a teoria denominada “*hipótese gonadostática*”, segundo a qual, desde o nascimento da fêmea bovina, o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano é funcionalmente competente. Atribuindo a ausência de secreção de GnRH durante a fase pré-púbere à ação do estradiol, o qual exerce *feedback* negativo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário. Dessa forma, é observado no final da fase pré-púbere a redução do número de receptores deste hormônio no hipotálamo e na adeno-hipófise (DAY et al., 1987; KINDER et al., 1987), resultando em estímulo para o crescimento folicular e maior produção de estradiol, que por sua vez induz o estro e a liberação do pico pré-ovulatório de LH, promovendo a ovulação (RAWLINGS et al., 2003).

Por outro lado, Kinder et al. (1987) relataram que, devido à presença de quantidades variáveis de estradiol produzido pelos folículos ovarianos, a ovulação ou luteinização poderá ocorrer, resultando em aumentos transitórios nas concentrações de progesterona, geralmente não precedidas de comportamento de estro.

Embora seja provável a ação inibitória do estradiol, o estímulo prévio da progesterona é necessário para que o estro puberal se manifeste por meio de sinais externos, e seja seguido de ovulação e função luteal competente (MARSON

et al., 2001).

Acredita-se que pela interação dos estrógenos e da progesterona existam mudanças na morfologia uterina durante os estádios finais da maturação sexual. Capacitando as fêmeas à reprodução e promovendo um ambiente uterino mais adequado ao desenvolvimento do embrião e estabelecimento da gestação (BERGFELD et al., 1994).

Posteriormente à puberdade e a ocorrência de três ciclos estrais consecutivos e em intervalos regulares acrescidos dos sinais externos de comportamento de estro, o animal atinge a plena capacidade reprodutiva, e é considerado sexualmente maduro (ROMANO, 1997).

2.2. Fatores que interferem na puberdade

A puberdade é influenciada por diversos fatores principalmente nutricionais e genéticos (BARCELOS et al., 2001), como:

2.2.1. Idade e peso corporal

A idade à puberdade é uma característica de produção fundamental em bovinos, sendo importante parâmetro utilizado na seleção genética de novilhas e está diretamente relacionada ao peso e composição corporal (CARDOSO e NOGUEIRA, 2007; SÁ FILHO et al., 2008). Dessa forma, têm sido reportadas correlações negativas entre a ingestão de alimentos e a idade à puberdade e positiva entre a ingestão de alimentos e o peso corporal (SÁ FILHO et al., 2008; EIMERICK et al., 2009).

Assim, a principal causa de variação para o início da puberdade, dentro das raças, é condição quali-quantitativa da alimentação (ROBINSON, 1990; SCHILLO et al., 1992; SEJRSEN e PURUP, 1997). Para atingir o peso corporal mínimo necessário à reprodução é preciso que novilhas sejam submetidas a um manejo nutricional adequado.

Resultados de Lammoglia et al. (2000) relatados por Eimerick et al. (2009) permitem concluir que se o animal não sofrer pressão de seleção para a puberdade precoce, não haverá antecipação da puberdade até que os animais alcancem a idade cronológica inerente à limitação da própria raça. Sendo que as

novilhas possuem idade mínima à puberdade geneticamente pré-determinada (COSTA, 2008). Estudos correlacionando a idade cronológica e o peso corporal com o primeiro estro fértil da novilha resultaram em valores mais significativos para o peso corporal. O estro sempre ocorre em uma faixa de peso delimitada para cada genótipo, independente do tempo necessário para atingir peso (BARCELLOS, 2001)

Segundo Schillo et al. (1992) o início da puberdade ocorre quando as novilhas alcançam 40 a 50 % do seu peso corporal adulto, sendo que acima desse peso, a fertilidade e a velocidade de concepção não apresentam incremento significativo (ROVIRA, 1996).

Admite-se que o momento ideal para uma fêmea ingressar a vida reprodutiva (puberdade zootécnica) é quando consiga atingir 65-70 % do peso corporal das fêmeas adultas do rebanho (GONÇALVES et al., 2008).

2.2.2. Escore de condição corporal

O escore de condição corporal (ECC) estima o estado nutricional dos animais por meio de avaliação visual e/ou tátil, sendo uma medida subjetiva baseada na classificação dos animais em função da cobertura muscular e de gordura.

De acordo com Dias (1991) a avaliação da condição corporal ou de suas flutuações para estimar as reservas corporais é mais adequada do que as mensurações de peso corporal, pois sua análise independe do tamanho e do estado fisiológico do animal (prenhez, etc).

Com base em estudos de Whitman (1975) e de Lowman et al. (1976), criou-se uma escala com mais escores, a qual foi modificada por Spitzer (1986), com aplicação de valores de 1 a 9.

As notas são atribuídas aos animais de acordo com a quantidade de reservas teciduais, especialmente de gordura e de músculos, em determinadas regiões do corpo, frequentemente associadas a pontos anatômicos específicos, tais como determinadas protuberâncias ósseas nas costelas, processos espinhosos e transversos da coluna vertebral, fossa paralombar, extremidade do ílio, base da cauda, sacro e vértebras lombares.

Os escores extremos (superior ou inferior) são indesejáveis em qualquer

escala e em qualquer espécie animal. Os escores vão de 1 até 5 sendo 1 caquético ou demasiadamente magro, 2 magro, 3 médio ou ideal, 4 gordo, 5 obeso (NICHOLSON e BUTTERWORTH, 1986; DIAS, 1991; MACHADO et al. 2008).

2.2.3. Altura de garupa

Conforme Baker et al. (1988) a altura de garupa é a forma mais conveniente de descrever o tamanho esquelético em bovinos de corte

De acordo com Barcellos et al. (2001) novilhas de maior estrutura necessitam de maiores taxas de ganho diário de peso para alcançar o peso corporal ótimo à puberdade do que novilhas de menor estrutura. Portanto, em situação de menor disponibilidade de nutrientes, as novilhas menores podem alcançar mais facilmente a puberdade do que as de maior estrutura, e em iguais condições a novilha de menor tamanho pode alcançar mais rápido a puberdade.

Existem evidências de que a altura de garupa tenha correlação moderada e positiva com o perímetro escrotal (VARGAS et al., 2000) o qual têm correlação positiva com precocidade ponderal e sexual.

2.2.4. Genética

A ingestão de nutrientes e a taxa de crescimento corporal influenciam a idade à puberdade, mas não o peso corporal à puberdade (ALMEIDA et al., 2013). Porém, o fator genético pode afetar diretamente o peso corporal ideal, bem como a idade em que a puberdade é manifestada (MARSON et al., 2004).

Existem evidências de que o perímetro escrotal esteja correlacionado geneticamente com a idade à puberdade nos machos e fêmeas, com a fertilidade das fêmeas aparentadas a estes machos (NOTTER, 1988; MARTINS FILHO, 1991; BERGMANN, 1993, GRESSLER et al., 1998).

Seleção para menor idade à puberdade e aumento do perímetro escrotal leva ao aumento da taxa de gestação, sugerindo que a seleção dentro de uma raça pode ser capaz de melhorar as características reprodutivas como a taxa de gestação (MORRIS et al., 2000).

2.3. Desenvolvimento dos órgãos genitais

As características de reprodução são difíceis de serem mensuradas e interpretadas, visto que são influenciadas por interações entre bezerro, touro e vaca (ZERLOTTI et al., 2000).

No entanto, características como tamanho e diâmetro de folículos, e tamanho e textura do útero podem ser utilizadas para determinar o estágio do ciclo estral em que o animal se encontra (PIERSON e GINTHER, 1987). Além disso, folículos pequenos de 2 a 3 mm de diâmetro podem ser visualizados, quantificados e sequencialmente monitorados. A utilização do ultrassom melhorou a avaliação dos órgãos genitais em bovinos (BEAL et al., 1992).

Anderson et al. (1991) propuseram uma técnica para avaliar o grau de desenvolvimento dos órgãos genitais em bovinos (Tabela 1).

Tabela 1. Escore de desenvolvimento dos órgãos genitais na espécie bovina (mm).

	Diâmetro do útero	Ovários	Estruturas ovarianas
ETR			
1*	<20	15x10	Sem folículos palpáveis
2	20 a 25	18x12	Folículos de 8 mm.
3	25 a 30	22x15	Folículos entre 8-10 mm.
4	30	30x16	Folículos >30 mm
5	>30 mm	>32x20	Folículos + Corpo Lúteo

*: Imaturo; **Fonte:** Anderson et al. (1991); ETR: Escore do trato reprodutivo.

Reproductive tract score (RTS), escore do trato reprodutivo (ETR) ou grado de desenvolvimiento reproductivo (GDR), por seus nomes preconizados em inglês, português e espanhol. Baseado na tabela 1, e pelo exame via transretal de ovários e útero, os autores preconizaram prever o desempenho reprodutivo de novilhas destinadas à reprodução atribuindo o ETR 1 às novilhas com órgãos genitais infantis, sem tônus uterino, ovários pouco ativos e sem dominância folicular. As novilhas com escore 2 possuem ovários e útero pouco mais desenvolvidos e pequenos folículos ovarianos. As novilhas com ETR 3 estão próximas a ciclarem e com folículos ovarianos próximos a 10 mm de diâmetro. As novilhas com ETR 4 são consideradas cíclicas, no entanto, não possuem corpo lúteo palpável, como as novilhas com ETR 5 (MONTERO, 2009).

Posteriormente, Mihura e Casalo (1999) preconizaram que deve ser usado

o maior número de características conjuntamente, sendo que a seleção isolada de uma característica pode levar ao aumento exagerado e acarretar problemas na produção. Da mesma forma, modificaram a tabela proposta por Anderson et al. (1991) e preconizaram menores diâmetros para o útero e ovários de novilhas na fase peripuberal (Tabela 2). Segundo os autores, em média, novilhas com ETR 1 apresentam baixa taxa de concepção (15,4%). Para obter uma taxa de concepção acima de 50% as novilhas deveriam entrar na estação de acasalamento no mínimo com ETR 3.

Tabela 2. Modificação da tabela de escore de desenvolvimento dos órgãos genitais na espécie bovina, proposta por Anderson et al. (1991) (mm).

	Diâmetro do útero	Ovários	Estruturas ovarianas
ETR			
1*	<5	<10	Sem folículos palpáveis
2	5 a 10	15x10	Sem folículos palpáveis
3	10 a 15	15x15	Folículos preovulatórios.
4	>20	>20	Folículos + Corpo Lúteo

*: Imaturo; **Fonte:** Mihura e Casaro (1999); ETR: Escore do trato reprodutivo.

2.4. Útero bovino

Em novilhas, uma gestação em um “momento anátomo-fisiológico” inadequado causaria atraso no crescimento da jovem fêmea, pelo aumento das exigências nutricionais pela mãe e feto (ALMEIDA et al., 2013).

Dessa forma, a importância de úteros hígidos e maduros bem desenvolvidos, radica no fornecimento de um ambiente favorável para a sobrevivência, transporte e a capacitação espermática, desde o local de ejaculação até a região da fertilização no oviduto (ampola). Da mesma forma que modula a função do corpo lúteo e interfere na implantação e controle embrionário, para o desenvolvimento normal da gestação (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

O útero bovino é composto de dois cornos uterinos (bicornual) onde ocorre a implantação e desenvolvimento do concepto, um corpo e uma cérvix. Os bovinos apresentam um septo que separa ambos cornos. Na sua estrutura, o epitélio uterino apresenta diversas carúnculas. Ambas as margens uterinas são unidas à parede pélvica e abdominal pelo ligamento largo do útero (HAFEZ e JAINUDEEN,

2000).

O útero é situado quase que inteiramente dentro da cavidade abdominal. O corpo uterino tem aproximadamente 3 e 4 cm de comprimento. As partes caudais dos cornos se encontram unidas por tecido muscular e conjuntivo sob uma cobertura peritoneal comum (SISSON, 1986).

A parede uterina é constituída de três camadas, a periférica denominada de serosa ou perimétrio, a intermediária indicando a muscular ou miométrio e a interna chamada de mucosa ou endométrio (DELLMANN e BROWN, 1982).

O perimétrio é coberto pelo mesotélio peritoneal, e é composto por tecido conjuntivo frouxo, que possui numerosos vasos linfáticos, sanguíneos e fibras nervosas (PRIEDKALNS e LEISER, 1998).

O miométrio é composto por uma camada circular interna e uma camada longitudinal externa de células musculares lisas. Entre as duas camadas ou profundamente na camada interna, há uma zona vascular constituída de grandes artérias, veias e vasos linfáticos, que recebe o nome de estrato vascular, os quais se comunicam com o endométrio (BANKS, 1992).

O endométrio é constituído por duas zonas que diferem em estrutura e função. A camada superficial consiste em tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado com muitos fibroblastos. A camada mais profunda (glandular) consiste em tecido conjuntivo frouxo contendo glândulas simples, tubulares, ramificadas e espiraladas, por todo o endométrio exceto nas áreas das carúnculas. Abrem-se na superfície do endométrio (DELLMANN e BROWN, 1982; BANKS, 1992; PRIEDKALNS e LEISER, 1998). O epitélio luminal possui cílios na superfície das células colunares (STINSON et al., 1962).

2.5. Alterações uterinas durante o ciclo estral

Durante o ciclo estral acontecem mudanças reguladas pelos hormônios esteroides ovarianos, e o equilíbrio entre si (estrógeno-progesterona). O crescimento do útero (síntese protéica e divisões celulares) é induzido por estrógenos.

2.5.1. Fase folicular

No proestro, sob influência de estrógeno, grandes espaços teciduais irregulares contendo líquido estão presentes. A presença deste líquido excessivo no endométrio é denominada edema endometrial (DELLMANN e BROWN, 1982). Da mesma forma, as células epiteliais lisas do endométrio aumentam suas secreções para o lume uterino (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Assim, maiores concentrações fisiológicas de estradiol próximo à IA influencia positivamente a fertilização por meio da redução do pH uterino, modificando o transporte dos espermatozoides e aumentando a longevidade dos mesmos até o momento da ovulação (PERRY e PERRY, 2008). O endométrio é restaurado ao início da fase proliferativa (GRUNERT e GREGORY, 1989). A mucosa se torna espessa, congesta e edematosa com a predominância de células secretoras de muco. Entretanto, a proliferação glandular limita-se a um crescimento linear das glândulas, sem ramificação ou enovelamento. Durante o estro, o edema, hipertrofia, hiperplasia e a hiperemia endometriais são marcantes (GRUNERT e GREGORY, 1989; PRIEDKALNS e LEISER, 1998), e seu desenvolvimento máximo é alcançado no estro e nos dois dias subsequentes (DERIVAUX, 1980). O estradiol também aumenta a frequência das contrações uterinas.

Noakes (2001) relata que entre 24 a 48 horas após o estro o edema diminui as carúnculas uterinas mostram hemorragias petequiais, dando origem hemorragia do metaestro (HAFEZ e HAFEZ, 2004), caracterizando o processo de metrorragia (MARTIN, 2003).

2.5.2. Fase luteal

Altas concentrações de progesterona são observadas quando a atividade contrátil no útero é relativamente quiescente (MARTIN, 2003).

Com o início do diestro, as glândulas endometriais crescem, secretam e tornam-se mais espiraladas e complexas à medida que aumenta as concentrações de progesterona produzida pelo CL em desenvolvimento (HAFEZ, 1995). Dessa forma, o endométrio passa de um estágio proliferativo para um secretor, com espessamento do epitélio glandular, além de ramificação, enovelamento e secreção das glândulas (GRUNERT e GREGORY, 1989).

Durante os primeiros 11 dias do diestro, a secreção glandular é grande, mas se a gestação não acontecer ocorre regressão das glândulas juntamente com a luteólise nos últimos três dias do diestro (PRIEDKALNS e LEISER, 1998).

Na vaca, nos últimos três ou quatro dias do diestro, ocorre regressão da mucosa, com redução na altura do epitélio luminal, e as glândulas uterinas tornam-se curtas com epitélio baixo e sem secreção (MARTIN, 2003).

2.6. Hormonioterapia

Os protocolos hormonais de sincronização de estro podem representar um impacto econômico na produção de bezerras e de leite, tendo em vista que estes tratamentos podem induzir a puberdade, adiantando a idade ao primeiro parto, e conseqüentemente, melhorando a eficiência reprodutiva e produtiva de fêmeas bovinas (SILVA FILHO et al. 2007)

A hormonioterapia quando bem empregada é capaz de contribuir no aumento da eficiência reprodutiva. Estes tratamentos se baseiam na associação no uso do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) ou progesterona (P4). Associadas às gonadotrofinas coriônicas (hCG e eCG), estrógenos e prostaglandinas (BARUSELLI et al., 21012). O mecanismo pelo qual a progesterona pode antecipar a puberdade, seria reduzindo o *feedback* negativo do estradiol no hipotálamo, pela redução do número de receptores para estradiol (DAY et al., 1984; TAUCK et al., 2007).

Nos últimos anos, vários protocolos hormonais têm sido utilizados para induzir a puberdade em novilhas (ANDERSON et al., 1996; RASBY et al., 1998; VOGG et al., 2004).

Tauck et al. (2007) relataram que a exposição à progesterona por 14 dias pode aumentar a taxa de prenhez em comparação à exposição por 7 dias em novilhas de corte. Porém, esses tratamentos de longa exposição à P4 se não forem associados ao estradiol no momento certo, ocasionam maior tempo de maturação folicular e maior tempo para ovulação, sendo relacionados à menor qualidade do ovócito, além de gerar maior custo (PFEIFER et al., 2009).

Anderson et al. (1996) induziram a puberdade em novilhas utilizando somente um progestágeno durante 10 dias, e concluíram que a progesterona

poderia induzir a puberdade suprimindo os receptores para estradiol no hipotálamo. A retirada do estímulo progesterônico aceleraria a secreção de LH na fase folicular conduzindo à ovulação puberal.

2.7. Ultrassonografia uterina

As imagens ultrassonográficas (Gray-scale) foram introduzidas na clínica reprodutiva em 1983 para avaliar as condições clínicas de órgãos genitais em éguas. Um ano após, o mesmo foi realizado em bovinos, permitindo acreditar e corroborar todos os estudos reportados nos últimos 30 anos de pesquisa em animais de produção (GINTHER, 2014).

O primeiro relato do uso da ultrassonografia em animais vivos foi no Colorado State University. A localização e visualização do útero requeriam entre 20 e 60 segundos, sendo possível escanear os órgãos genitais internos da fêmea sem necessidade da manipulação do útero. Os mesmos pesquisadores relataram mudanças na camada endometrial ao longo do ciclo estral (REEVES e HAUSERB, 1984).

Em humanos, a avaliação da espessura endometrial têm sido usada há mais de 20 anos como uma ferramenta para avaliar a receptividade endometrial e a fertilidade (BAERWALD e PIERSON, 2004). No ciclo menstrual, há aumento da espessura endometrial após a ovulação, e têm sido preconizadas falhas na implantação do embrião em espessuras menores de 9 milímetros (BOYS e CHAPMAN, 2012).

Reeves e Haserb (1984) relataram mudanças no útero de fêmeas bovinas ao longo do ciclo estral, sendo que a espessura da camada endometrial aumenta a partir da luteólise, durante a fase folicular, alcançando maior espessura no dia da ovulação, e diminuindo posteriormente (PIERSON e GINTHER, 1987; JIMENEZ_KRASSEL et al., 2009), possivelmente pela ação da progesterona. Desta forma, a ecogenicidade endometrial tem sido usada como indicador biológico de concentrações circulantes de progesterona (GINTHER, 1995), e como indicador da exposição do útero ao estrógeno para a detecção do período pré-ovulatório (HAYES et al., 1985).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, O.M.; PINHO, R.O.; LIMA, D.M.A.; MARTINS, L.F. Endocrinologia da puberdade em fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano XI, n. 20, p. 1-13 2013.

ANDERSON, K.J.; LEFEVER, D.G.; BRINKS, J.S.; ADDE, K.G. The use of reproductive tract score in beef heifers. **Agri-practice**, v. 12, n. 4, p. 19-26, 1991.

ANDERSON, L.H.; McDOWELL, C.M.; DAY, M.L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 1025-1031, 1996.

BAERWALD AR, PIERSON RA. Endometrial development in association with ovarian follicular waves during the menstrual cycle. **Ultrasound Obstet Gynec.**, v. 24 p. 453– 460, 2004.

BAKER, J.F.; STEWART, T.S.; LONG, C.R. et al. Multiple regression and principal components analysis of puberty and growth in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 66, p. 2147-2158, 1998.

BANKS, W.J. Sistema Reprodutor Feminino. In: **Histologia veterinária aplicada**. 2 ed. São Paulo: Manole, cap. 27, p. 565 – 588, 1992.

BARCELLOS, J.O.J. **Puberdade em novilhas Bradford: desenvolvimento corporal e relações endócrinas**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 164p., 2001.

BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S.; SALA, R.R.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 139-152, 2012.

BEAL, W.E.; PERRY, R.C.; CORAH, L.R. : The use of ultrasound in monitoring reproductive physiology in beef cattle, **Journal Animal Science**. 70. 1992. p.924-929.

BERGFELD, E. G.; KOJIMA F. N.; CUPP A. S.; WEHRMAN M. E.; PETERS K. E.; GARCIA-WINDER M.; KINDER J. E. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. **Biology of Reproduction**, v. 51, p. 1046-1050, 1994.

BERGMANN, J.A.G., QUIRINO, C.R., VALE FILHO, V.R., ANDRADE, V.J., PEREIRA, J.C.C. **Evaluation of four mathematical functions to describe scrotal circumference maturation in Nelore bulls.** In: World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, 6, 1998.

BOYS, E. E CHAPMAN, M. Review: The Influence of Endometrial Thickness on IVF Outcomes. **Journal of Fertilization In Vitro**, v. 2, p. 3, 2012.

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G.P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivo de Ciências Veterinária e Zootecia**., v. 10, n. 1, p. 59-67, 2007.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO; IGEB, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Leite e derivados**, 2013.

CORDENONSI B.L.; MATARIM D.L.; BARROS M.G.; MIZIARA M.N.; LOPES P.A.; FRANCO T. **Genética bovina brasileira: Mercado internacional das competências e tecnologias mineiras.** Uberaba, Brasil, 2012.

COSTA, A. N. L. Sincronização do estro e ovulação em novilhas girolandas: comparação entre dois protocolos hormonais, "CIDR-B" E "OVSYNCH". **Revista de Ciências Agrônomicas**. v. 39, n. 1, p. 137- 141, 2008.

COULTER GH. **Escrotal circumference: a review.** In: Annual Meeting of The Society for Theriogenology, 1991, San Diego, CA. Proceedings , San Diego: Society for Theriogenology, p. 113-116, 1991.

DAY, M.L.; IMAKAWA, K.; GARCIA-WINDER, M.I. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction**, v. 31, p. 332-341, 1984.

DAY, M.L.; IMAKAWA K.; WOLFE P.L.; KITTOCK R.J.; KINDER J.E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of Hypothalamo-Pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction**, v. 37, p. 1054-1065, 1987.

DELLMANN, H.D.; BROWN, E.M. **Histologia veterinária.** Rio de Janeiro. Brasil, Guanabara, p. 397, 1982.

DERIVAUX, J. Modificações Histofisiológicas do Trato genital durante o Ciclo Estral. In: **Reprodução dos Animais Domésticos.** Acribia, p. 20- 33, 1980.

DIAS, F. M. G. N. **Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas.** (Mestrado) Programa de Pós-Graduação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1991.

EIMERICK, L. L.; DIAS, J. C.; GONÇALVES, P. E. M.; MARTINS, J. A. M.; LEITE, T. G.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R. Aspectos relevantes sobre a puberdade em fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2009.

GINTHER OJ. **Ultrasonic imaging and animal reproduction: book 1**, fundamentals. Cross Plains, WI: Equiservices Publishing; 1995, p.60.

GINTHER, O. J. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. **Theriogenology**, v. 81, p. 112–125, 2014.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2008, p.395.

GRESSLER, S.L.; BERGMANN, J.A G., PENNA, V.M.; PEREIRA, C.S.; PEREIRA, J.C.C. **Estudo das associações genéticas entre perímetro escrotal e características reprodutivas de fêmeas da raça Nelore**. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 35^a, Botucatu, SP, 1998. Anais. SBZ, Botucatu, SP, v.3, p. 368-370.

GRUNERT, E. e GREGORY, R.M. **Diagnóstico e Terapêutica da Infertilidade na Vaca**. 2 ed. Porto Alegre: Sulina, 1989. p.163.

HAFEZ. **Reprodução Animal**. 6 ed. São Paulo: Manole, 1995. P.30.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M.R. Reproductive Cycles. In: HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7 ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 55-66.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal** (7ed). São Paulo. Manole, p. 319-329, 2004.

HAYES K.E.; PIERSON, R. A.; SCRABA, S.T.; GINTHER, O.J. Effectsofestruscycle and season on ultrasonic uterine anatomy in mares. **Theriogenology**, v. 24, p. 465–77, 1985.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFI A E ESTATÍSTICA, IBGE. Efetivo dos rebanhos e das aves, **Documento Brasil em números**, RJ-IBGE/92-15(rev. 2011), v. 21, p.206 – 212, 2013

JAINUDEEN, M. R. & HAFEZ, E.S.E. Cattle and buffalo. In: JAINUDEEN, M. R. & HAFEZ, E.S.E. (6ed). **Reproduction in farm animals**. Lea & Febiger, 1993, p. 315-329.

JIMENEZ-KRASSEL F.; FOLGER J.K.; IRELAND J.L.H.; SMITH G.W.; HOU X.; DAVIS J.S.; LONERGAN P.; EVANS A.C.O.; IRELAND J.J. Evidence That high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. **Biology Reproduction**, v. 80, n. 81, p.1272, 2009.

KINDER, J.E.; DAY, M.L.; KITTOK, R.J. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 34, p. 167-186, 1987.

LAMMOGLIA, M.A.; BELLOWS, R.A.; GRINGS, E.E.; BERGMAN, J.W.; BELLOWS, S.E.; SHORT, R.E.; HALLFORD, D.M.; RANDEL, R.D. Effects of dietary fat and sire breed on puberty, weight, and reproductive traits of F1 beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 78, p. 2244-2252, 2000.

LIMA, J.; SCHRAIBER, ARALDI, D.; **Indução à Redução da Idade à Puberdade de Novilhas de Corte com Progestágenos**. Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, UNICRUZ, 2011.

LOWMAN, B. G. N.; SCOTT, N. A.; SOMERVILLE, S. H. Condition scoring of cattle. The Edinburgh School of Agriculture, Bulletin, 6, p. 6, 1976.

MACHADO, R.; CORRÊA, R. F.; BARBOSA, R. T.; AURÉLIO, C.M. **Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes**. Circular técnica 57. EMBRAPA-São Carlos, 2008

MARSON, E. P.; GUIMARÃES, J.D.; MIRANDA NETO, T. Puberdade e maturidade sexual em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 28, p, 1-64, 2004.

MARSON, E.P.; GUIMARÃES; J.D.; GUIMARAES, S. E. F. ; MIRANDA NETO, T. Concentrações plasmáticas de progesterona em novilhas compostas Montana Tropical, durante as fases pré-puberal e puberal. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, p.134-136, 2001.

MARTIN, I. **Caracterização morfo-funcional do útero de bovinos durante o ciclo estral**. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ/ UNESP – Campus de Botucatu, 2003.

MARTINS-FILHO, R. **Estimativas de correlação genéticas entre circunferência escrotal em bovinos da raça Nelore e características reprodutivas em suas meias -irmãs paternas**. Ribeirão Preto, 1991. 92 p. Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

McDONALD, L. E. **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4th. Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 2003, p. 597.

MIHURA, H.; CASARO, G. Selección de vaquillonas de reposición en rodeos de cría. **Revista Taurus**. v. 1, n. 4, p. 34-39, 1999.

MONTERO. Efecto del grado de desarrollo reproductivo sobre la preñez de vaquillonas de 15 meses con servicio natural. **Taurus**, v. 11 n. 43, p. 28-32, 2009.

MORRIS, CA, WILSON, J.A., BENNET, G.L., CULLEN, N.G., HICKEY, S.M., HUNTER, J.C. Genetic parameters for growth, puberty and beef cow reproductive traits in a puberty selection experiment. **New Zealand Journal of Agricultural Research**, v. 43, p. 83-91, 2000.

NICHOLSON, M. J.; BUTTERWORTH, M. H. **A guide to condition scoring of zebu cattle**. Addis Ababa: International Livestock Centre for Africa, p. 26, 1986.

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, Cap. 1, p. 2-53, 2001.

NOTTER, D.R. **Evaluating and reporting reproductive traits**. In: Beef Improvement Federation, 1988, Albuquerque, NM, Proceeding Albuquerque, NM, 1988. p. 21-42.

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, p. 333-338, 2008.

PFEIFER, L.F.M.; CASTILHO, E.M.; ROLL, V.F.B.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E.A.; DIONELLO, N.J.L. Efeito da duração do tratamento com progestágeno e da maturidade sexual na taxa de prenhez em novilhas de corte: avaliação econômica e biológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1205-1210, 2009.

PIERSON, R.A. e GINTHER, O.J. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle **Journal American Veterinary Medicine Animal**, v. 190, n. 8, 1987.

PRIEDKALNS, J.; LEISER, R. Female Reproductive System. In: DELLMANN, H.D.; EURELL, J. **Textbook of Veterinary Histology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. p. 247-286.

RASBY, R.J.; DAY, M.L.; JOHNSON, S.K.; Kinder J.E.; Lynch J.M.; Short R.E.; Wettemann R.P.; Hafs H.D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequeute injection of estradiol, **Therigenology**, v. 50, p. 55-63, 1998.

RAWLINGS, N.C.; EVANS, A.C.; HONARAMOOZ, A.; BARTLEWSKI P.M. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.259-270, 2003.

REEVES, J. J.; RANTANEN, N. W.; HAUSER, M. Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. **Theriogenology**, v. 21, p. 485–94, 1984.

ROBINSON, J. J. Nutrition in the reproduction of farm animals. **Nutrition Research Review**, Cambridge, v.3, v. 70, n.12, p. 253-276, 1990.

ROMANO, M. C. **Efeito do nível nutricional sobre a antecipação da idade à puberdade e caracterização de dinâmica folicular nos períodos pré e pós-púbere em novilhas Nelore**. São Paulo, 1997. 103p.(Tese em medicina veterinária) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

ROVIRA, J. L. **Manejo nutritivo de los rodeos de cria en pastoreo**. Hemisferio Sur. 1996 p. 293.

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MEDALHA, A. G.; BARUSELLI, P. S. **Biotecnologia da reprodução em bovinos**. In: Simpósio Internacional De Reprodução Animal Aplicada, 3. Londrina, Anais p. 54-67, 2008.

SCHILLO, K. K.; HALL, J. B.; HILEMAN, S. M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. **Journal Animal Science**, v. 70, n.12, p. 3994-4005, 1992.

SEJRSEN, K.; PURUP, S. Influence of prepubertal feeding level on milk yield potential of dairy heifers: a Review. **Journal Animal Science**, v. 75, n. 3, p.828-835, 1997.

SILVA FILHO, A. H.; ARAÚJO, A. A.; RODRIGUES, A. P. Indução da puberdade em novilhas com uso da hormonioterapia. **Ciência Animal**, v. 17, n. 2, p. 83-89, 2007.

SISSON, S. Aparelho Urogenital. In: GETTY, R. **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. cap. 31, p.879 - 895.

SPITZER, J. C. **Influences of nutrition on reproduction in beef cattle**. In: MORROW, D. A. (Ed.). Current therapy in Theriogenology. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, p. 231-234, 1986.

STINSON, M.W.; WEBER, A.F.; ZEMJAMIS, R. The Bovine Endometrium – An Electron Microscopic Study. **American Journal of Veterinary Research**, v. 23, n. 97, p. 1164-1182, 1962.

TAUCK, S.A.; WILKINSON, J.R.C.; OLSEN, J.R. et al. Comparison of controlled internal drug release device and melengesterol acetate as progestin sources in an estrous synchronization protocol for beef heifers. **Theriogenology**, v. 68, p. 162-167, 2007.

VARGAS C.A; ELZO, M. A; CHASE, J.R. Genetic parameters and relationship between hip height and weight in brahman cattle. **Journal Animal Science**, v. 78, p. 3045-3052, 2000.

VOGG, G.; SOUZA, C.J.H.; JAUME, C.M.; MORAES J.C.F. Utilidade do benzoato de estradiol após suplementação com progestágeno na sincronização de cios de novilhas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 41-46, 2004.

WHITMAN, R. W. **Weight change, body condition and beef-cow reproduction**. Thesis (Ph. D.). Colorado State University, Fort Collins, p. 115, 1975.

WILTBANK, J. N.; KASSON, C. W.; INGALLS, J. E. Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. **Journal of Animal Science**, v. 29, p. 602-605, 1969..

ZERLOTTI M.E.; MERCADANTE; RAYSILDO BARBOSA LÔBO R.B.; DE OLIVEIRA H.N. Estimativas de (Co)Variâncias entre Características de Reprodução e de Crescimento em Fêmeas de um Rebanho Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 29, n. 4, p. 9

CAPITULO 1

Metodologia de avaliação da biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos)

RESUMO

O útero têm funções essenciais na reprodução sexual dos animais, como o controle da função luteal, além de atuar no transporte e capacitação dos espermatozoides, bem como na implantação, desenvolvimento do embrião, alojamento, nutrição e proteção do feto até o final da gestação. No presente estudo objetivou-se avaliar uma metodologia para obtenção de dados biométricos do útero. Foram obtidas imagens ultrassonográficas em cortes transversais na primeira região uterina (da bifurcação interna dos cornos uterinos até o início da curvatura maior). Na segunda região (a partir da curvatura maior até pouco antes do ápice do corno) e na terceira região (extremidade livre do corno). Foram utilizados úteros de cinco fêmeas bovinas sexualmente maduras da raça Holandesa, criadas em manejo de *Losing-House*. Mensurou-se a espessura endometrial e o diâmetro dos cornos uterinos no animal *in vivo* e nos órgãos genitais *post mortem*. Os dados quantitativos foram analisados pela ANOVA e as médias comparadas pelos testes de Tukey ou Duncan ou então pela análise não paramétrica com as médias comparadas pelo teste de Kruskal Wallis ou Wilcoxon. Considerou-se a probabilidade de 5 % de erro em todas as análises. Os valores médios não apresentaram diferenças para nenhuma das características avaliadas no animal *in vivo* e no órgão *post mortem* ($P>0,05$). Nas mensurações em cada uma das regiões no animal *in vivo*, a região um correspondente à bifurcação dos cornos uterinos, mostrou valores médios semelhantes para diâmetro do corno uterino esquerdo ($21,0\pm 2,6$ mm), espessura endometrial do corno esquerdo ($10,39\pm 4,9$ mm), diâmetro do corno uterino direito ($22,9\pm 2,8$ mm), e espessura endometrial do corno direito ($10,8\pm 5,2$ mm). De igual forma com os valores da região dois para diâmetro do corno uterino esquerdo ($22,9\pm 3,2$ mm), espessura endometrial do corno esquerdo ($11,6\pm 5,5$ mm), diâmetro do corno uterino direito ($25,6\pm 3,9$ mm), e espessura endometrial do corno direito ($11,4\pm 5,0$ mm). E com os valores da região três para diâmetro do corno uterino esquerdo

(17,2±2,7 mm), espessura endometrial do corno esquerdo (9,9±4,6 mm), diâmetro do corno uterino direito (19,0±3,6 mm), e espessura endometrial do corno direito (9,3±4,3 mm) da região três. Porém, os valores da região dois diferiram da região três ($P < 0,05$). Dessa forma, a obtenção de imagens ultrassonográficas em cortes transversais e a mensuração das biometrias uterinas (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos) na região 1 mostra-se eficiente na avaliação uterina em animais *in vivo*.

INTRODUÇÃO

Na reprodução dos animais, o útero é um órgão essencial para a procriação e perpetuação das espécies. Dessa forma, as funções dele são essenciais para o desenvolvimento embrionário e fetal.

Comumente, a literatura cita o eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal como o responsável pelo controle e desenvolvimento do ciclo estral. Porém, no bovino o útero também é parte essencial nesta modulação que acontece em média a cada 21 dias, controlando a função lútea mediante mecanismos luteolíticos por parte das células endometriais ($PGF_{2\alpha}$). Atua no transporte e capacitação dos espermatozoides, desde o ponto de ejaculação até as tubas uterinas (local onde ocorre a fertilização do gameta feminino), assim como na implantação e desenvolvimento do embrião. O útero proporciona alojamento, nutrição e proteção do feto até o final da gestação (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Também, possui uma função especial no parto e na expulsão das membranas placentárias, para a recuperação dos tecidos e do ambiente uterino com finalidade de nova concepção e gestação.

Todos esses eventos acontecem pelas contrações da camada muscular uterina, e pela função da camada endometrial, de forma que uma gestação em “momento anátomo-fisiológico” inadequado causaria atraso no desenvolvimento da jovem fêmea (ALMEIDA et al., 2013).

Dessa forma, diversos estudos têm sido realizados no intuito de avaliar a maturidade dos órgãos genitais e estimar a puberdade e maturidade sexual de fêmeas aptas à reprodução (ANDERSON et al., 1991; HOLM et al., 2009). Da mesma forma que a avaliação da função da camada endometrial e sua relação com fertilidade para predizer o momento mais próximo da ovulação e inseminação a tempo fixo mais eficiente (PIERSON e GINTHER, 1987; SOUZA et al., 2011; MONA e PINTO et al., 2014).

O uso de imagens ultrassonográficas dos órgãos genitais e a biometria uterina têm sido empregados pelos autores anteriormente mencionados. Porém a metodologia não foi descrita detalhadamente e, é neste sentido que objetivou-se no presente estudo, padronizar e descrever uma metodologia de alta acurácia

para mensurar o diâmetro e a espessura endometrial dos cornos uterinos, por meio da obtenção e interpretação de imagens ultrassonográficas.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi conduzido com animais da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Minas Gerais, (-20°, 45', 16,3" latitude norte e 42°, 52', 57,02" longitude leste), a uma altura de 660 metros acima do nível do mar, possui clima tropical com chuvas durante o verão, e temperatura entre 10 e 23 °C, com média de 19 °C, (CARDONA et. al., 2013).

Os abates dos animais foram realizados no frigorífico experimental do Departamento da Zootecnia (DZO-UFV), e as mensurações dos órgãos genitais foram feitas nos Laboratórios de Anatomia e Reprodução Animal do Departamento de Veterinária da mesma instituição.

Aspecto ético

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA da Universidade Federal de Viçosa, sob protocolo Nº 88/2013 e sua execução sob a responsabilidade do Médico Veterinário Laércio dos Anjos Benjamin.

Animais

Foram utilizadas cinco fêmeas bovinas adultas da raça Holandesa, cíclicas (na fase do diestro) e sexualmente maduras, de ordem de parto igual a quatro, as quais se encontravam clinicamente híginas, livres de patologias nos órgãos genitais, indicadas ao abate por critérios zootécnicos e estratégia de reposição do rebanho de acordo com o manejo de produção da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão-Gado de Leite do DZO-UFV.

As fêmeas foram mantidas em sistemas estabulados *Losing-House*, em baias coletivas (12 m²/animal) de acordo com a produção leiteira, alimentadas com ração e silagem de milho fornecidas duas vezes ao dia logo após as ordenhas (7:30 e 16:30 horas). Suplemento mineral proteinado e água foram

fornecidos para consumo *ad-libitum*. O estábulo possui sistema de ventilação para a dissipação do calor, como também camas individuais secas e limpas.

Com a intenção de verificar a acurácia da interpretação e das mensurações da espessura endometrial e diâmetro uterino obtidas pelos exames ultrassonográficos dos cornos uterinos no animal *in vivo*, foram colhidas *post mortem* os órgãos genitais desses mesmos animais, mensurados e seccionados nos mesmos pontos avaliados *in vivo*.

Mensurações *in vivo*

Considerando que os animais tinham que ser transportados ao frigorífico experimental (DZO/UFV), doze horas antes do abate foram feitas em cada uma das cinco vacas, exames dos órgãos genitais, para o qual os animais foram contidos em tronco individual apropriado. Em seguida, foi feita a limpeza do reto do animal e introduzido o transdutor transretal linear na frequência de 7,5 MHz (MINDRAY® 75L50EAV). Foram obtidas e salvas imagens ultrassonográficas (aparelho MINDRAY® Dp2200) para posteriores mensurações da espessura endometrial e o diâmetro uterino.

Mensurações *post mortem*

Após o abate das vacas, foram colhidos os órgãos genitais, e refrigerados com gelo reciclável em caixas isotérmicas e conduzidos ao Laboratório de Anatomia (DVT/UFV). No laboratório, cada peça foi colocada dentro de cubas cheias de água, para obtenção de imagens dos cortes transversais nas três regiões de cada um dos cornos uterinos e posteriores mensurações da espessura endometrial e diâmetro uterino. Posteriormente, com auxílio de bisturi, cada corno foi seccionado transversalmente em cada região proposta e identificadas as camadas uterinas.

Espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos

Para facilitar a mensuração da espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos, o útero foi dividido em três regiões, modificando os segmentos preconizados por GINTHER (1998). A primeira região compreendeu o início da bifurcação interna dos cornos uterinos (ainda unidos pelo septo intercornual), a bifurcação externa (início do ligamento intercornual) e cada um dos cornos

uterinos até o início da curvatura maior do útero. A segunda região foi considerada a partir da curvatura maior até pouco antes de começar o ápice do corno e a terceira região foi considerada a extremidade do corno (considerados como região 1 o segmento 1, região 2 os segmentos 2 e 3, e região 3 os segmentos 4 e 5 preconizados por Ginther, 1998).

Nas imagens ultrassonográficas obtidas de cortes transversais de ambos cornos nas diferentes regiões estabelecidas, procurou-se evitar erros que gerassem imagens fora do padrão comum da anatomia dos órgãos genitais. Dessa maneira, o transdutor foi posicionado de tal forma que fosse obtido a maior superfície de contato sem chegar a deformar o corno por causa de pressão. O seu posicionamento sempre foi de 90° de inclinação, e perpendicular em relação ao corno.

Na figura 1 é ilustrado o posicionamento do transdutor sobre os cornos uterinos na região 1, de acordo com a metodologia descrita anteriormente. Nessas imagens foi obtido o diâmetro médio do corno uterino pela média de duas mensurações perpendiculares ao diâmetro do útero. Da mesma forma, a espessura endometrial foi mensurada, sendo considerada como a distância da camada visualizada desde o lume uterino até a interface do miométrio (SOUZA et al., 2011). Para maior acurácia, foi obtida a média da mensuração da camada endometrial dorsal e ventral. Medidas divergentes em mais de um milímetro entre as duas camadas foram consideradas erradas e realizadas novamente.

Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à estatística descritiva com obtenção das médias, desvios-padrão e coeficiente de variação. Os dados quantitativos foram submetidos aos testes de Lilliefors e de Cochran e Bartlett, para verificar respectivamente, a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. A análise de variância (ANOVA) foi usada para avaliações de todos os dados que atenderem às premissas da ANOVA. Os testes de Tukey ou Duncan foram empregados para comparação das médias e quando os dados não atenderam as premissas da ANOVA (normalidade dos dados e homogeneidade da variâncias), os dados foram avaliados por meio de análise não paramétrica e as médias comparadas pelos testes de Kruskal Wallis ou Wilcoxon, empregando-se 5 % de

probabilidade de erro. Quando os valores de variação foram superiores a 15 %, empregou-se o teste de Duncan, no intuito de evitar o erro estatístico tipo II. Correlações simples de Pearson foram realizadas entre todas as características estudadas.



FIGURA 1. Posicionamento transversal do transdutor, sobre os cornos uterinos na região 1 (A); cornos uterinos seccionados transversalmente na região 1; (B); delineamento das camadas uterinas na peça *post mortem* (C).

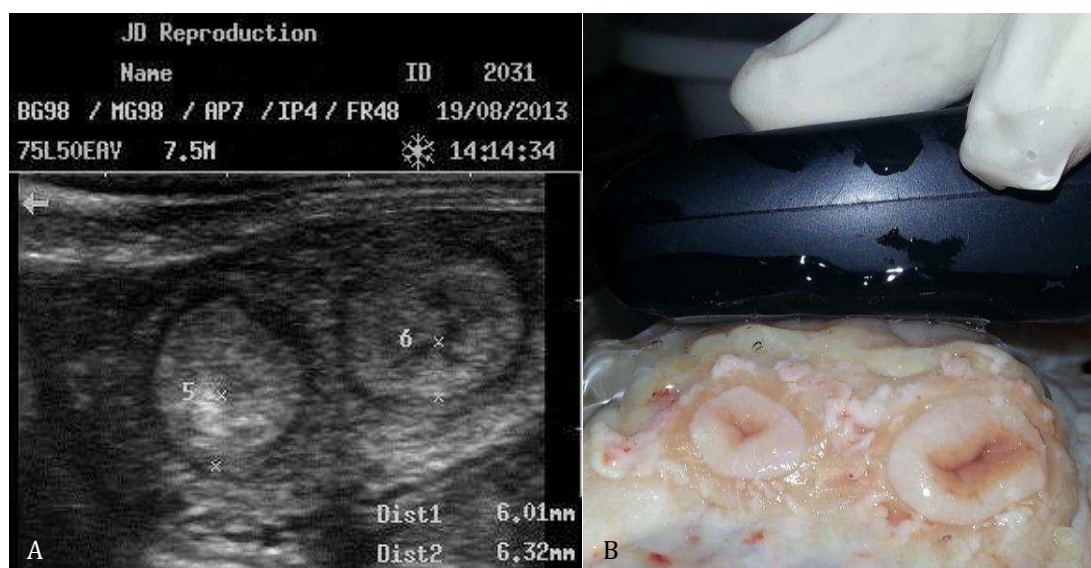


FIGURA 2. Imagem ultrassonográfica *in vivo* (A) e cornos uterinos *post mortem* (B) seccionados transversalmente de úteros de vacas da raça Holandesa; Os X delimitam a espessura da camada endometrial em ambos cornos.

RESULTADOS

Das três regiões do corno esquerdo e direito, os valores médios do diâmetro do corno esquerdo e sua espessura endometrial foram de $21,7 \pm 4,2$ e $10,9 \pm 4,9$ mm. Para os animais *in vivo* foi de $20,5 \pm 3,6$ e $10,6 \pm 4,7$ mm e para as mensurações *post mortem* foi de $23,4 \pm 4,9$ e $11,5 \pm 4,9$ mm para o diâmetro uterino e espessura endometrial, respectivamente. As mesmas mensurações para o corno uterino direito foram de $23,0 \pm 3,9$ e $10,6 \pm 4,6$ mm. No animal *in vivo* foram de $22,8 \pm 4,3$ e $10,5 \pm 4,6$ mm e nas medidas *post mortem* foram de $23,7 \pm 3,9$ e $11,0 \pm 4,7$ mm para o diâmetro de corno e espessura endometrial, respectivamente. Não houve diferença nos valores médios obtidos das mensurações *in vivo* e *post mortem* para diâmetro e espessura endometrial do corno esquerdo e direito ($P > 0,05$; Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão (mm) da espessura endometrial e o diâmetro uterino *in vivo* e *post mortem* de vacas da raça Holandesa, criadas em regime *Losing-House*.

Características	<i>IV</i>	<i>PM</i>	MÉDIA
DCE	$20,5 \pm 3,6$	$23,4 \pm 4,9$	$21,7 \pm 4,2$
EECE	$10,6 \pm 4,7$	$11,5 \pm 4,9$	$10,9 \pm 4,9$
DCD	$22,8 \pm 4,3$	$23,7 \pm 3,9$	$23,0 \pm 3,9$
EECD	$10,5 \pm 4,6$	$11,0 \pm 4,7$	$10,6 \pm 4,6$

($P > 0,05$) na mesma linha, pelo teste de Tukey; *IV*: *in vivo*; *PM*: *post mortem*; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo.

Os valores médios obtidos por região a partir das imagens ultrassonográficas nos animais *in vivo* e posteriormente nas mensurações *post mortem* estão sumarizados na tabela 2, onde os valores médios da espessura endometrial e do diâmetro de cada corno por região foram comparados nas diferentes regiões uterinas. Nas regiões 1 e 2 os valores médios da espessura endometrial e do diâmetro dos cornos uterinos esquerdo e direito *post mortem* se mostraram semelhantes aos valores médios obtidos nos animais *in vivo* ($P>0,05$).

Tabela 2. Valores médios e desvio padrão (mm) da espessura endometrial e diâmetro do corno uterino *in vivo* e *post mortem* de acordo com a região do corno uterino de vacas da raça Holandesa criadas em regime *Losing-House*.

Características	<i>In Vivo</i>	<i>Post Mortem</i>	Média
Região 1			
DCE	21,0±2,6	24,2±4,2	22,8±3,8
EECE	10,3±4,9	11,7±5,4	10,7±5,1
DCD	22,9±2,8	24,4±3,0	23,7±2,8
EECD	10,8±5,2	11,3±4,8	10,6±4,8
Região 2			
DCE	22,9±3,7	26,8±4,7	24,2±3,9
EECE	11,6±5,5	13,3±4,7	12,3±4,9
DCD	25,6±3,9	26,8±2,7	25,8±3,3
EECD	11,4±5,0	12,9±5,4	12,7±4,9
Região 3			
DCE	17,1±2,7	19,1±2,2	18,2±2,5
EECE	10,0±4,6	9,9±5,2	9,6±4,8
DCD	19,0±3,6	19,8±2,3	19,5±2,8
EECD	9,3±4,3	8,9±3,7	8,5±3,6

($P>0,05$) na mesma linha, pelo teste de Tukey; **Região 1:** Da bifurcação dos cornos até a curvatura maior; **Região 2:** Da curvatura dos cornos até a **Região 3:** Ápice do corno uterino; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo.

Os valores da tabela 3 representam a comparação por regiões, indicando que o diâmetro dos cornos uterinos e a espessura endometrial na região 1 mostraram-se semelhantes aos valores médios das outras regiões mensuradas ($P>0,05$). Porém, os valores médios da região 3 para o diâmetro do corno uterino esquerdo mostraram valores inferiores à região 2 ($P<0,05$). Baseando nas análises de correlações Simples de Pearson, verificou-se que os valores médios para a região 3 tendem a ser inferiores às demais regiões (correlação média e negativa de -0,44 e -0,49 para os cornos esquerdo e direito, respectivamente).

Tabela 3. Valores médios e desvio padrão (mm) da espessura endometrial do diâmetro dos uterinos *in vivo*, de acordo com a região do corno uterino de vacas da raça Holandesa criadas em regime *Loosing-House*.

Características	Região 1	Região 2	Região 3	Média
DCE	21,0±2,6 AB	22,9±3,2 A	17,1±2,7 B	20,5±3,6
EECE	10,3±4,9	11,6±5,5	9,9±4,6	10,2±4,9
DCD	22,9±2,8	25,6±3,9	19,0±3,6	22,7±4,3
EECD	10,8±5,2	11,4±5,0	9,3±4,3	9,9±4,7

Valores médios seguidos por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; **Região 1:** Da bifurcação dos cornos até a curvatura maior; **Região 2:** Da curvatura dos cornos até a **Região 3:** Ápice do corno uterino; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo.

DISCUSSÃO

Inicialmente, houve dificuldades para a interpretação das imagens obtidas na metodologia proposta, sendo que a literatura que relata o uso da ultrassonografia nos exames da genitália da fêmea bovina, não mostra detalhadamente a delimitação das camadas uterinas, ou não são utilizadas imagens de qualidade que o permita.

Com o avanço dos aparelhos ultrassonográficos e sua precisão, novas estudos ultrassonográficos reportam a delimitação exata, e inclusive relatam as mudanças ecogênicas das camadas uterinas no ciclo estral (DESCÔTEAUX et al. 2010). No entanto, as imagens ultrassonográficas mostram uma camada mais interna, a qual se encontra delimitada perfeitamente por uma camada anecóica, o que levou a pensar inicialmente que o corno como um todo, era somente a camada interna.

Contudo, a interpretação das imagens obtidas ficou esclarecida após a revisão e associação com a histologia uterina relatada por Dellmann e Brown (1982). A camada mais interna das imagens é formada pelo endométrio seguido de uma fina camada muscular transversal. Posteriormente, delimitado por um tecido frouxo ricamente vascularizado (estrato vascular que gera imagem anecóica no ultrassom), uma camada muscular longitudinal e o perimétrio (Figura 3).

Posteriormente foram obtidas e interpretadas as imagens relatadas na metodologia. O diâmetro obtido dos cornos uterinos no animal *in vivo* e nos órgãos genitais colheitados após o abate, não coincidem com os valores preconizados por Anderson et al. (1991), onde a presença de CL no ovário, tônus uterino e

diâmetros uterinos superiores a 30 milímetros são atribuídos a fêmeas maduras sexualmente aptas à reprodução. os diâmetros uterinos obtidos no estudo coincidem com os valores médios propostos por Mihura e Casaro (1999), que modificaram os valores preconizados por Anderson (1991) e relataram diâmetros uterinos de 20 mm para úteros maduros. Contudo, têm que ressaltar que os valores foram preconizados para novilhas, e no presente estudo foram utilizadas fêmeas adultas pluríparas.

No entanto, para proceder à classificação das mensurações obtidas de acordo com as duas tabelas, a presente metodologia teria que ser utilizada em acompanhamentos reprodutivos de animais desde sua fase pré-puberal.

As médias dos diâmetros dos cornos uterinos se mostraram semelhantes entre as imagens obtidas *in vivo* e nos órgãos genitais colheitados *post mortem* dos mesmos animais (Tabela 1). A espessura endometrial para ambos cornos também não apresentaram diferenças, e de acordo com a metodologia proposta anteriormente. Diferenças menores de um milímetro são consideradas como válidas entre a camada endometrial dorsal e ventral, levando em consideração que o lume uterino não apresenta uma mucosa interna lisa (SENGER, 2003). Isso explica também, as variações entre os valores absolutos para espessura endometrial nos úteros dos animais *in vivo* e *post mortem*.

Pierson e Ginther (1987) fizeram cortes longitudinais 15 milímetros após o cérvix, sendo um dos primeiros relatos da literatura. Os autores escanearam os cornos uterinos com o transdutor lateralmente no sentido cranial (cortes transversais). Porém, os autores relataram que nem sempre foram diferenciadas claramente as camadas uterinas nas imagens ultrassonográficas. A técnica utilizada não permite o aproveitamento só de uma imagem para mensurar o diâmetro e a espessura endometrial do corno uterino.

Os valores médios obtidos para as diferentes áreas dos cornos uterinos, no animal *in vivo* e nos órgãos colheitados *post mortem*, indicam que a metodologia a partir de imagens de cortes transversais gerados por meio da ultrassonografia se mostra confiável para mensurar a biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro do corno uterino a partir da mesma imagem).

Com o intuito de padronizar o local de mensuração dos cornos uterinos, e considerando o comprimento dos cornos uterinos, foi constatado que a espessura

endometrial e o diâmetro dos cornos uterinos na região 1 apresentaram valores semelhantes às outras duas regiões. Dessa forma, a região 1 mostra-se representativa do útero como um todo, verificando a metodologia utilizada por Souza et al. (2011), os quais utilizaram imagens de cortes transversais dos cornos uterinos cranialmente à bifurcação uterina.

Monteiro et al. (2013) mensuraram a espessura endometrial de um só corno. Porém, as estruturas no ovário poderiam influenciar mais o corno ipsilateral, podendo haver uma mudança maior acima dele, de forma que a hipótese deveria ser testada.

A técnica mesmo se mostrando eficiente e atingindo sua finalidade, apresenta dificuldade da manipulação do transdutor na cavidade pélvica por via transretal, necessitando de um tempo de treinamento prévio dos avaliadores, o qual dependerá da habilidade do mesmo. A indicação desta técnica para predizer o aspecto uterino em novilhas principalmente na fase peri-puberal para identificação da idade à puberdade e/ou maturidade sexual pode apresentar dificuldades. A cavidade pélvica em novilhas normalmente é estreita e dificulta movimentar a mão juntamente com o transdutor e gerar as imagens de cortes transversais com o posicionamento correto do transdutor.

O melhor procedimento para obter as imagens ultrasonográficas foi girar o transdutor na palma da mão, ou posicionar o corno transversalmente antes de posicionar o transdutor, sem necessidade de manipular o corno uterino e probe, simultaneamente. Tais procedimentos são acompanhados pelas imagens ultrasonográficas, corrigindo os erros de posicionamento da probe e pressão excessiva acima dos cornos para obtenção da melhor imagem (visão clara das delimitações das regiões uterinas).

Considerando que estudos anteriores relatam mudanças na espessura endometrial dos cornos uterinos ao longo do ciclo estral (PIERSON e GINTHER, 1987; SOUZA et al., 2011) e que Montanholi et al. (2004) e Robson et al. (2007) relatam correlações positivas entre o diâmetro uterino e o ganho de peso, idade e peso corporal, puberdade e maturidade sexual, se recomenda que essas características sejam estudadas de forma associada em diferentes faixas etárias e ao longo do ciclo estral de fêmeas bovinas.

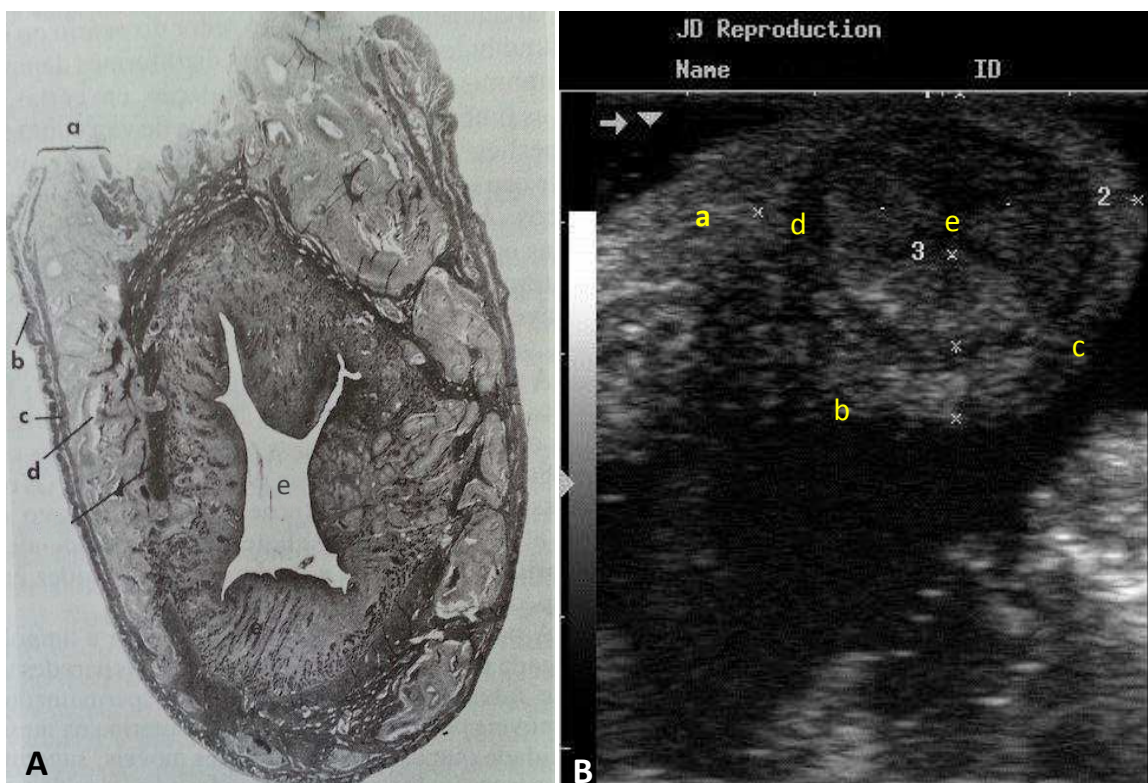


FIGURA 3. Aspecto histológico (A) e ultrassonográfico (B) do ligamento largo do útero (a), das camadas serosas (b), muscular longitudinal (c), e vascular (d), e do lume do útero (e). Fonte: A: Dellmann e Brown (1982); B: Arquivo pessoal.

CONCLUSÕES

A obtenção e correta interpretação de imagens transversais da primeira região do útero (início da bifurcação uterina até a curvatura maior) por meio da ultrassonografia transretal bovina, mostra-se uma metodologia com alta acurácia e eficiente para avaliar a biometria uterina (espessura e diâmetro dos cornos uterinos);

A ultrassonografia transretal bovina permite identificar em imagens de cortes transversais do útero a camada muscular, vascular, endometrial e o lume uterino.

A região 1 apresenta valores semelhantes às demais regiões do útero para a biometria uterina (espessura e diâmetro dos cornos uterinos).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, O.M.; PINHO, R.O.; LIMA, D.M.A.; MARTINS, L.F. Endocrinologia da puberdade em fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano XI, n. 20, p. 1-13, 2013.

ANDERSON, K.J.; LEFEVER, D.G.; BRINKS, J.S.; ADDE, K.G. The use of reproductive tract score in beef heifers. **Agri-practice**, v. 12, n. 4, p. 19-26, 1991.

CARDONA J.A.; MONTES J.C.; CASTAÑO F.A, BLANCO R.D.; LEÓN V.E.G. Frequência da dermatiose cutânea bovina em vacas da raça Holandesa de uma granja leiteira de Viçosa (MG, Brasil). **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 8, n. 1, p. 82-94, 2013

DELLMANN, H.D.; BROWN, E.M. **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro. Brasil, 1982. Guanabara, p. 397, 1982.

DESCÔTEAUX, L.; CHASTANT-MAILLARD, S.; GNEMMI, G.; COLLOTON, J.; BOLLWEIN, H. **Practical Atlas of Ruminant and Camelid. Reproductive Ultrasonography Bovine Uterus**. Chapter five Faculté de médecine vétérinaire Université de Montréal, Canada, 2010.

GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging and animal reproduction: Cattle, Book 3. Equiservices Publishing. 1998. P.106.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7.ed. São Paulo, 2004. Manole, p. 319-329, 2004.

MENDES, D. **Acasalamento da novilha aos 14 meses**. Monografia apresentada à Faculdade de Veterinária Como requisito parcial para Obtenção da graduação em Medicina Veterinária. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, faculdade de veterinária, p. 19-21, 2010.

MIHURA, H.; CASARO, G. Selección de vaquillonas de reposición en rodeos de cría. **Revista Taurus**. v. 1, n. 4, p. 34-39, 1999.

MONA E PINTO, J.; PAVANELO JR, V.; ALVES DE FATIMA, L.; MEDEIROS DE CARVALHO, L.M.; PACHECO, G.; FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; SAMPAIO BARUSELLI, P.; PALMA RENNO, F.; PAPA, P.C. Treatment with eCG Decreases the Vascular Density and Increases the Glandular Density of the Bovine Uterus. **Reprodução Domestica Animal**, v. 49, p. 453–462, 2014.

MONTANHOLI, Y.R.; BARCELLOS, J.O.J.; BORGES, J.B.; DA COSTA, E.C.; WUNSH, C.; PRATES, E.R. Ganho de peso na recria e desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas com sobreano. **Pesquisa agropecuaria brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1253-1259, 2004.

MONTEIRO, F.M.; MERCADANTE, M.E.Z.; BARROS, C.M.; SATRAPA, R.A.; SILVA, J.A.V.; OLIVEIRA, L.Z.; SARAIVA, N.Z.; OLIVEIRA, C.S.; GARCIA, J.M. Reproductive tract development and puberty in two lines of Nellore heifers selected for postweaning weight. **Theriogenology**, v. 1, n. 8, 2013.

PIERSON, R.A. E GINTHER, O.J. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. **JAVMA**, v. 190, n. 8, p. 995-1001, 1987.

ROBSON, C.; MAGLIETTI, C.; LÓPEZ VALIENTE, S.; VOGEL, O.; CELSER. Grado de desarrollo reproductivo (gdr): su utilización en vaquillas entoradas a los 18 meses. **Corrientes, Noticias y Comentarios**. N. 417, p.1-4, 2007.

SENGER, P.L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.ed. Washington: Current Conceptions, 2003, p.60.

SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P.; GÜMEN, A.; AYRES, H.; BRUSVEEN, D.J.; GUENTHER, J.N.; WILTBANK, M.C. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, p. 722–733, 2011.

CAPITULO 2

Biometria uterina e ovariana de novilhas da raça Holandesa na fase puberal e na maturidade sexual

RESUMO

A reprodução assistida em bovinos têm sido implementada visando elaborar estratégias que ajudem a aumentar a eficiência reprodutiva nos rebanhos. Desta forma, a ultrassonografia é uma ferramenta que vem sendo aceita e difundida na pecuária. Poucas características de seleção têm sido usadas pelos programas de melhoramento genético em fêmeas bovinas, relacionadas diretamente a dados biométricos dos órgãos genitais com a fertilidade. No presente estudo se objetivou avaliar alterações da biometria uterina de 38 fêmeas da raça Holandesa, criadas em manejo *Tie-Stall*, dos nove aos 20 meses de idade. A cada quinze dias, durante dois meses, foram obtidas imagens ultrassonográficas via transretal e utilizadas para avaliar o diâmetro dos cornos uterinos, a espessura endometrial e a atividade ovariana. Foram realizadas conjuntamente avaliações de peso corporal e altura na cernelha com auxílio de balança e hipômetro respectivamente. Os animais foram classificados em classes a cada três meses, tentando abranger os eventos reprodutivos. Os dados quantitativos foram analisados pela ANOVA e suas médias comparadas pelos testes de Tukey ou teste de Duncan, ou então pela análise não paramétrica com as médias comparadas pelo teste de Kruskal Wallis ou Wilcoxon. Considerou-se a probabilidade de 5 % de erro em todas as análises. Os animais da classe 1 (9-11 meses) apresentaram assincronia entre o desenvolvimento ponderal e o reprodutivo com correlações positivas entre peso e altura ($r=0,4$) e correlações negativas com a biometria uterina ($r=-0,7$ em média). Na classe 2 (12 a 14 meses) as fêmeas atingiram a puberdade, e o desenvolvimento e a função reprodutiva foram constatadas pela presença de corpo lúteo. E, finalmente, nas classes 3 (15 a 17 meses) e 4 (18 a 20 meses), cornos uterinos se maximizaram com a maturidade sexual dos animais.

INTRODUÇÃO

O crescente aumento populacional não só exige maior demanda pela quantidade de proteína animal, como também o menor preço desses produtos e sua inocuidade. O Brasil se tornou o terceiro maior produtor de leite no mundo; entretanto muitos estudos devem ser feitos para a especialização da pecuária leiteira brasileira (CONAB - IGBE, 2013). Assim, os elevados índices de produção devem sempre se associar à alta eficiência reprodutiva como metas que norteiem os pecuaristas para um custo-benefício melhor na atividade, sendo a eficiência reprodutiva um dos principais fatores que contribuem para a melhoria do desempenho produtivo e lucratividade dos rebanhos comerciais (VASCONCELOS e MENEGETTI, 2006).

A reprodução assistida em bovinos têm sido implementada visando elaborar estratégias de ação efetivas que ajudem a aumentar a eficiência reprodutiva nos rebanhos, como a seleção de machos e fêmeas com base no potencial de fertilidade (MONTEIRO et al., 2001). Dessa forma, as avaliações ultrassonográficas como exames complementares na reprodução assistida na espécie bovina, e por ser uma técnica não invasiva, simples e de fácil acesso, pode ser grande alternativa prática e vantajosa à atividade de bovinocultura, por possibilitar rápidos diagnósticos dos órgãos genitais e ou estatus reprodutivo (GONZALEZ et al., 2010). A ultrassonografia têm facilitado os estudos anatômicos dos órgãos genitais, o qual é muito importante no entendimento de diversos fenômenos fisiológicos e reprodutivos do animal (BELLO et al., 2012), e no estabelecimento de critérios de seleção para fertilidade (MENDES et al., 2010; SOUZA, et al., 2011).

O presente estudo teve como objetivo avaliar as possíveis mudanças de desenvolvimento do útero por meio da espessura endometrial e do diâmetro dos cornos uterinos de novilhas da raça Holandesa na fase de transição à puberdade e maturidade sexual.

MATERIAL E MÉTODOS

A fase experimental compreendeu o período de agosto a setembro de 2013, utilizando animais da Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Gado de Leite (UEPE-GL) do Departamento de Zootecnia, da Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Minas Gerais (-20°, 45',16,3" latitude norte e 42°, 52',57,02" longitude leste), a uma altura de 660 metros acima do nível do mar, possui clima tropical com chuvas durante o verão, e temperatura entre 10 e 23 °C, com média de 19 °C (CARDONA et. al., 2013).

Aspecto ético

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA da Universidade Federal de Viçosa, protocolo N° 88/2013 e sua execução sob a responsabilidade do Médico Veterinário Laércio dos Anjos Benjamin.

Animais e manejo experimental

Neste estudo foram utilizadas 38 novilhas da raça holandesa numa faixa etária entre nove e 20 meses de idade. As avaliações foram realizadas quinzenalmente durante o período experimental (agosto e setembro de 2013), totalizando quatro avaliações por animal, ou seja, 2,5 ciclos estrais.

Os animais foram criados em manejo de *Tie-Stall*, divididos em lotes (8 m²/animal) por idades, peso corporal e altura, sendo o mais homogêneo possível. Seis animais compuseram cada lote. De acordo com a faixa etária e o maior grau de desenvolvimento dos animais, os requerimentos nutricionais foram ajustados segundo as recomendações de exigências nutricionais (NRC, 2001). Suplemento mineral, ração, silagem de milho, feno e água foram fornecidos para consumo *ad libitum*.

As novilhas foram separadas por classes de idades com a finalidade de facilitar as análises e sua relação com a fisiologia animal, usando intervalos de 3 meses de idade tentando abranger os eventos reprodutivos que caracterizam essas faixas etárias: classe 1 (9, 10 e 11 meses), classe 2 (12, 13 e 14 meses), classe 3 (15, 16 e 17 meses) e classe 4 (18, 19 e 20 meses).

Avaliações do desenvolvimento ponderal e reprodutivo

O desenvolvimento ponderal dos animais foi avaliado quinzenalmente por meio do peso corporal e altura conjuntamente aos exames ultrassonográficos via transretal dos órgãos genitais (Aparelho MINDRAY® Dp2200, acoplado a um transdutor linear 75L50EAV na frequência de 7,5 MHz), para avaliar o desenvolvimento e funcionalidade da biometria uterina e ovariana.

Imagens ultrassonográficas dos ovários foram obtidas, salvas e posteriormente utilizadas para mensurar seus diâmetros, assim como o diâmetro das estruturas ovarianas (folículo de maior diâmetro e/ou corpo lúteo quando presente). Posteriormente, seguindo a metodologia proposta no capítulo anterior para mensurações dos cornos uterinos, foram obtidas imagens de cortes transversais de ambos cornos somente na primeira região (a partir da bifurcação até a curvatura maior).

Após a obtenção das imagens ultrassonográficas dos cornos uterinos, mensurou-se o diâmetro do corno uterino pela média de duas mensurações perpendiculares da largura do útero. Da mesma forma, a espessura endometrial foi mensurada, sendo considerada como a distância da camada visualizada desde o lume uterino até a interface do miométrio (SOUZA et al., 2011). Para ter maior acurácia, foi obtida a média da mensuração da camada endometrial dorsal e ventral. Medidas divergentes em mais de um milímetro entre as duas camadas foram consideradas erradas e realizadas novamente.

Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à estatística descritiva com obtenção das médias, desvios-padrão e coeficiente de variação. Os dados quantitativos foram submetidos aos testes de Lilliefors e de Cochran e Bartlett, para verificar respectivamente, a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. A análise de variância (ANOVA) foi usada para avaliações de todos os dados que atenderem às premissas da ANOVA. Os testes de Tukey ou Duncan foram empregados para comparação das médias e quando os dados não atenderam as premissas da ANOVA (normalidade dos dados e homogeneidade da variâncias), os dados foram avaliados por meio de análise não paramétrica e as médias

comparadas pelos testes de Kruskal Wallis ou Wilcoxon, empregando-se 5 % de probabilidade de erro. Quando os valores de variação foram superiores a 15 %, empregou-se o teste de Duncan, no intuito de evitar o erro estatístico tipo II. Correlações Simples de Pearson foram realizadas entre todas as características estudadas.

RESULTADOS

As maiores alturas corporais foram apresentadas por animais com 17 e 18 meses de idade, com $1,3\pm 0,1$ e $1,3\pm 0,6$ metros, respectivamente. Os animais mais baixos corresponderam aos animais mais jovens (nove e dez meses) com média de $1,2\pm 0,2$ metros. As alturas dos animais da classe 3 e 4 foram semelhantes entre si ($P>0,05$) e maiores que dos animais das classes 1 e 2 ($P<0,05$; tabela 1). No geral, a altura apresentou alta correlação com o peso corporal ($r=0,8$), e valores médios de $1,2\pm 0,5$ metros e $296,5\pm 42,4$ kg, respectivamente.

O peso corporal dos animais se mostraram diferentes entre as faixas etárias ($P<0,05$; tabela 1). Os maiores valores foram observados em animais das classes 3 e 4, embora este último não tenha apresentado diferença em relação aos valores médios obtidos em animais da classe 2 ($P>0,05$; tabela 1). Os menores valores médios foram obtidos em animais da classe 1, que corresponderam aos animais mais jovens, eles diferiram dos valores médios verificados nas fêmeas das classes 2, 3 e 4 ($P<0,05$; tabela 1).

O útero das novilhas apresentou diâmetros maiores do corno esquerdo nos animais das classes 3 e 4 ($P<0,05$; tabela 1), correspondente aos animais de mais velhos. Na classe 2, os animais apresentaram valores médios intermediários e semelhantes aos valores obtidos nas fêmeas de todas as classes de idade ($P>0,05$; tabela 1) e na classe 1 observaram-se os menores valores ($P<0,05$; tabela 1). Entretanto, os valores médios do diâmetro do corno uterino direito não se mostrou diferente entre as fêmeas das classes de idade ($P>0,05$; tabela 1). A espessura endometrial do corno esquerdo se mostrou semelhante entre os animais das diferentes classes de idade ($P>0,05$; tabela 1). Já os valores médios da espessura endometrial do corno direito foram maiores em animais da classe 4

($P < 0,05$), sendo semelhantes entre as fêmeas das classes 1, 2 e 3 ($P > 0,05$; tabela 1).

Com relação ao diâmetro do ovário esquerdo, diâmetro do maior folículo no mesmo ovário esquerdo e a presença de corpo lúteo em ambos os ovários, não foram observadas diferenças entre os valores médios obtidos nas diferentes classes de idade ($P > 0,05$; Tabela 1). O valor médio do ovário direito foi inferior nas fêmeas da classe 1. Da mesma forma que, o diâmetro do maior folículo no ovário direito foi inferior nos animais das classes 1 e 2 ($P < 0,05$; Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios e desvio padrão de altura e peso corporal, biometria uterina e ovariana (mm) de novilhas da raça Holandesa, criadas em regime de *free-stall* divididas faixas etárias em classes.

Características	Classes (Faixa etária)			
	1	2	3	4
ALTCER	116,1±2,0 C	122,8±4,0 B	127,6±3,7 A	128,0±2,6 A
PESO	221,5±20,0C	289,7±33,9B	321,1±29,9A	317,8±15,6AB
DCE	15,35±1,1 B	16,59±1,2 AB	16,71±2,1 A	16,6±1,8 A
EECE*	5,1±1,0	5,1±0,8	5,3±0,9	5,5±1,1
DCD	15,7±1,4	16,9±1,9	17,3±2,6	17,0±1,9
EECD*	5,5±0,7 B	5,3±0,8 B	5,3±1,1 B	6,0±1,2 A
DOE	17,1±2,9	17,2±4,2	18,5±5,8	20,3±6,6
DFOE	9,2±2,7	8,6±3,6	10,6±5,2	9,8±4,6
DCLOE	14,6±0,0	16,1±6,7	16,8±5,4	23,9±5,6
DOD*	19,8±3,0 B	21,9±5,2 A	22,6±4,1 A	23,7±5,0 A
DFOD	7,9±3,2 B	9,9±3,3 AB	10,6±3,9 A	9,8±3,4 A
DCLOD	14,8±1,2	19,2±5,9	18,8±3,0	18,6±3,3

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey ou pelo teste de Duncan (*); **Classes:** 1: 9-11 meses; 2: 12 a 14 meses; 3: 15 a 17 meses; 4: 18 a 20 meses; **ALTCER:** Altura na cernelha em cm; **PESO:** Peso vivo em Kg; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DOE:** Diâmetro do ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DCLOE:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário esquerdo; **DOD:** Diâmetro do ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **DCLOD:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário direito.

As análises de correlações Simples de Pearson nas diferentes classes de idade (Tabelas 2, 3 e 4) mostraram que o diâmetro do corno uterino esquerdo e direito estão altamente correlacionados com o diâmetro do corno uterino direito, e ambos cornos apresentaram correlacionados negativamente com o diâmetro do corpo lúteo. No geral, a espessura endometrial do corno uterino esquerdo apresentou correlação com o diâmetro do corno ipsilateral ($r=0,7$) e com o diâmetro do corno ($r=0,6$) e espessura endometrial ($r=0,7$) do corno uterino

oposto. Houve correlação do diâmetro dos ovários e as estruturas neles presentes (Tabela 2).

Tabela 2. Correlações Simples de Pearson entre as características ponderais, (altura e peso corporal) e reprodutivas (biometria uterina e ovariana) de novilhas da raça Holandesa entre os 9 e 20 meses, criadas em manejo de *free-stall*.

	ALTCER	PESO	DCE	EECE	DCD	EECD	DOE	DFOE	DCLOE	DOD	DFOD	DCLOD
ALTCER	1,0	0,8	0,2	NS	0,2	NS	0,2	0,2	NS	0,2	0,2	NS
PESO		1,0	0,1	NS	0,2	NS	0,2	0,2	NS	0,2	0,3	NS
DCE			1,0	0,7	0,8	0,6	NS	NS	-0,4	NS	NS	-0,3
EECE				1,0	0,6	0,7	-0,1	NS	-0,4	NS	NS	-0,3
DCD					1,0	0,7	-0,1	NS	-0,5	NS	NS	-0,2
EECD						1,0	-0,2	-0,2	-0,4	NS	NS	-0,3
DOE							1,00	0,7	0,8	-0,2	NS	NS
DFOE								1,00	NS	NS	-0,4	0,4
DCLOE									1,0	NS	0,3	NS
DOD										1,0	0,42	0,6
DFOD											1,0	0,4
DCLOD												1,0

ALTCER: Altura na cernelha; **PESO:** Peso vivo; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DOE:** Diâmetro do ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DCLOE:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário esquerdo; **DOD:** Diâmetro do ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **DCLOD:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário direito.

Na classe 1 (Tabela 3) os diâmetros dos cornos uterinos mostraram-se correlacionados entre si, e com as espessuras endometriais ipsilaterais e do corno oposto. Houve correlação média do tamanho do ovário esquerdo com as características uterinas, e do diâmetro do folículo esquerdo com o folículo direito e a espessura endometrial do corno esquerdo. Da mesma forma, o ovário direito apresentou correlação com a espessura endometrial do corno esquerdo, e com o diâmetro do ovário oposto. Durante a fase experimental, somente um animal desta classe de idade, apresentou corpo lúteo. Correlações negativas foram registradas do peso corporal e altura com a espessura endometrial e o diâmetro de ambos cornos uterinos e diâmetro do ovário esquerdo (Tabela 3). O peso corporal apresentou correlações negativas médias com diâmetro do folículo esquerdo e diâmetro do ovário direito, e correlação positiva com diâmetro do folículo direito. Da mesma forma, o diâmetro do folículo direito apresentou correlações negativas médias com as características uterinas, diâmetro ovariano e diâmetro do folículo do ovário esquerdo.

Tabela 3. Correlações Simples de Pearson entre as características ponderais, (altura e peso corporal) e reprodutivas (biometria uterina e ovariana) de novilhas da raça Holandesa, nas classes 1 e 2, criadas em manejo de *free-stall*.

2	1	ALTCER	PESO	DCE	EECE	DCD	EECD	DOE	DFOE	DCLOE	DOD	DFOD	DCLOD
ALTCER	1,0	0,4	NS	NS	-0,5	-0,4	-0,5	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PESO	0,8	1,0	-0,5	-0,7	-0,4	-0,5	-0,6	-0,7	NS	-0,5	0,6	NS	NS
DCE	NS	NS	1,0	0,6	0,6	NS	0,4	NS	NS	NS	-0,5	NS	NS
EECE	NS	NS	0,7	1,0	0,6	0,7	0,52	0,4	NS	0,4	-0,6	NS	NS
DCD	0,2	0,1	0,7	0,6	1,0	0,6	0,6	NS	NS	NS	-0,3	NS	NS
EECD	NS	NS	0,6	0,6	0,7	1,0	0,5	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DOE	0,3	0,3	NS	NS	NS	NS	1,0	0,4	NS	0,4	-0,4	NS	NS
DFOE	NS	NS	NS	NS	-0,2	-0,3	0,50	1,0	NS	NS	-0,5	NS	NS
DCLOE	0,5	NS	NS	NS	NS	NS	1,0	NS	1,0	NS	NS	NS	NS
DOD	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,2	NS	0,8	1,0	-0,48	NS	NS
DFOD	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0,4	0,5	0,5	1,0	NS	NS
DCLOD	0,3	NS	-0,3	NS	NS	-0,2	NS	0,4	0,8	NS	0,6	1,0	NS

Classe 1: 9 a 11 meses; **Classe 2:** 12 a 14 meses; **ALTCER:** Altura na cernelha; **PESO:** Peso vivo; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DOE:** Diâmetro do ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DCLOE:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário esquerdo; **DOD:** Diâmetro do ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **DCLOD:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário direito.

A classe 2 (Tabela 3) se caracterizou pela ocorrência da puberdade dos animais, de modo que se observaram correlações médias a altas do diâmetro dos cornos uterino e espessuras endometriais. Houve alta correlação do peso corporal e altura na cernelha, do diâmetro do ovário esquerdo com o diâmetro do folículo ipsilateral e do diâmetro do corpo lúteo ipsilateral e oposto. Correlações médias foram observadas entre os diâmetros dos corpos lúteos, e correlações do diâmetro do ovário direito com diâmetro do folículo e corpo lúteo ipsilateral.

Na classe 3 (Tabela 4) verificaram-se correlações média a alta do peso corporal com a altura na cernelha. Da mesma forma, verificaram-se correlações média a alta do diâmetro do ovário esquerdo com o diâmetro folicular ipsilateral. O diâmetro dos cornos uterinos correlacionou-se altamente com a espessura endometrial. Constataram-se correlações médias entre tamanho de folículo esquerdo e peso corporal, diâmetro do ovário direito e seu CL. Correlações negativas, em sua maioria média a alta, do corpo lúteo do ovário esquerdo e média do corpo lúteo do ovário direito foram observadas com diâmetro dos cornos uterinos e espessuras endometriais, e correlações positivas com o diâmetro dos maiores folículos.

Tabela 4. Correlações Simples de Pearson entre as características ponderais, (altura e peso corporal) e reprodutivas (biometria uterina e ovariana) de novilhas da raça Holandesa, nas classes 3 e 4, criadas em manejo de *free-stall*.

4 \ 3	ALT CER	PESO	DCE	EECE	DCD	EECD	DOE	DFOE	DCLOE	DOD	DFOD	DCLOD
ALT CER	1,0	0,7	NS	NS	NS	NS	0,1	0,3	NS	NS	NS	NS
PESO	NS	1,0	NS	-0,3	NS	NS	0,3	0,4	NS	0,2	NS	NS
DCE	0,5	NS	1,0	0,7	0,9	0,8	-0,2	NS	-0,8	-0,2	NS	-0,3
EECE	NS	NS	0,8	1,0	0,7	0,7	-0,3	-0,2	-0,6	NS	NS	-0,4
DCD	NS	NS	0,7	0,6	1,0	0,8	-0,2	NS	-0,8	-0,3	NS	-0,4
EECD	NS	NS	0,7	0,9	0,7	1,0	-0,3	-0,2	-0,5	-0,2	NS	-0,5
DOE	NS	-0,7	NS	NS	NS	NS	1,0	0,8	0,7	-0,2	NS	0,3
DFOE	-0,5	NS	NS	NS	0,6	NS	0,7	1,0	NS	NS	-0,4	0,3
DCLOE	NS	NS	-1,0	-0,9	NS	-1,0	NS	NS	1,0	NS	NS	NS
DOD	NS	0,7	NS	NS	NS	NS	-0,5	NS	NS	1,0	0,4	0,4
DFOD	NS	NS	-0,5	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	1,0	NS
DCLOD	-0,8	NS	-0,9	NS	NS	-0,7	NS	NS	NS	0,7	NS	1,0

Classe 3: 15 a 17 meses; **Classe 4:** 18 a 20 meses; **ALT CER:** Altura na cernelha; **PESO:** Peso vivo; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DOE:** Diâmetro do ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DCLOE:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário esquerdo; **DOD:** Diâmetro do ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **DCLOD:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário direito.

Na classe 4 (tabela 4) verificaram-se correlações média a alta entre as características de diâmetros dos cornos uterinos com espessura endometrial, ovário esquerdo com o diâmetro do folículo ipsilateral e ovário direito com diâmetro do corpo lúteo ipsilateral. A altura corporal apresentou correlação média com diâmetro do corno esquerdo, negativa e média com diâmetro do folículo esquerdo, e negativa alta com diâmetro do corpo lúteo direito. O peso corporal teve correlação negativa com diâmetro do ovário esquerdo e positiva com diâmetro do ovário direito. Correlações negativas altas do diâmetro do corpo lúteo com as mensurações uterinas foram registradas. Porém, não se observaram correlações do corpo lúteo com a espessura endometrial do corno direito e diâmetro de ambos os ovários.

DISCUSSÃO

As 38 novilhas da raça Holandesa foram divididas de acordo com a fisiologia do animal, esperando abranger os eventos reprodutivos nas quatro classes divididas a cada três meses. A primeira classe descrita considerou então

os animais entre os 9 meses até um dia antes de o animal completar os 12 meses de idade. Desta forma, esta classe seria composta por animais na fase pré e peri-puberal. Mesmo que Senger (2003) preconize idade de 8 meses para idade à puberdade em fêmeas da raça Holandesa, consideraram-se as condições de criação e manejo em que os animais foram criados, sendo as condições tropicais brasileiras diferentes das condições de origem e conforto da raça Holandesa. Esse fato poderia atrasar ou limitar a precocidade dos animais, visto que, o estresse por calor, ambiental e nutricional em regiões tropicais pode inibir a expressão de genes que determinam o início da idade à puberdade em raças taurinas (RODRIGUES et al., 2002).

Na classe 1 somente um animal apresentou-se púbere, diagnosticado pela presença do corpo lúteo. Assim, houve uma correlação média entre diâmetros dos cornos uterinos e espessuras endometriais. Observou-se correlação entre o diâmetro de ambos os ovários, o que era de se esperar, considerando que o desenvolvimento dos órgãos genitais, por serem órgãos pares, sejam homogêneos no seu desenvolvimento. Outros estudos mostram consenso com relação ao comprimento dos cornos uterinos em bovinos, onde os valores obtidos não diferiram entre os cornos uterinos esquerdo e direito em novilhas da raça Nelore (MONTEIRO et al., 2001).

O diâmetro do folículo esquerdo influenciou diretamente o tamanho do mesmo ovário. Sá Filho et al. (2010) relataram que a elevada concentração de estradiol é promovida pelo diâmetro do folículo ovulatório, o que poderia promover mudanças no ambiente uterino. Este hormônio influencia os órgãos genitais estimulando a epitelização, vascularização e contração do útero (BONDURANT, 1999). Tal fato explica a correlação do diâmetro dos folículos com o diâmetro dos cornos e a espessura endometrial dos cornos uterinos no presente estudo. No entanto, ressalta-se que a correlação não foi alta, provavelmente pelo fato dos animais ainda serem pré-púberes.

Nesta primeira classe de animais, os valores obtidos apresentaram correlação positiva entre peso corporal e altura na cernelha do animal, sendo natural que essas duas características estejam relacionadas, indicando um desenvolvimento ponderal correto, e coincidindo com a fisiologia de crescimento dos animais desta faixa etária. Porém, as correlações mais relevantes obtidas

nesta classe foram as correlações negativas registradas entre as características de desenvolvimento ponderal e as de desenvolvimento sexual. Ditas correlações negativas, indicam que na presente faixa etária, para estes animais, houve maior desenvolvimento ponderal (crescimento, peso corporal e altura) do que o desenvolvimento dos órgãos genitais. Fisiologicamente, o animal tem que crescer para logo desenvolver suas características reprodutivas. Nesse sentido, o correto desenvolvimento dos órgãos genitais nas etapas precoces do animal está relacionado a uma menor idade à puberdade, e atividade reprodutiva precoce, conseqüentemente com maior tempo produtivo, lembrando que a reprodução é um dos fatores que mais influencia no retorno econômico da atividade pecuária. A idade à puberdade é uma característica de produção fundamental em bovinos e sendo um importante parâmetro utilizado na seleção genética de novilhas, está diretamente relacionada ao peso corporal (CARDOSO e NOGUEIRA, 2007; SÁ FILHO et al., 2008).

Assim, os resultados do presente estudo corroboram com as correlações positivas entre a ingestão de alimentos e peso corporal. Porém, não corroboram as correlações negativas reportadas entre a ingestão de alimentos e a idade à puberdade relatadas por Sá Filho et al. (2008) e Eimerick et al. (2009). O fato dos animais apresentarem um correto desenvolvimento ponderal de acordo com a faixa etária indica que o atraso no desenvolvimento sexual desses animais são fatores intrínsecos, descartando a nutrição e o ambiente, mesmo sendo os fatores que mais influenciam a idade à puberdade (CIENFUEGOS-RIVAS et al., 1999; SARTORI e GUARDIEIRO, 2010).

Tais fatos poderiam ser explicados pelo estudo de Lammoglia et al. (2000), citados por Eimerick et al. (2009) os quais concluíram que o animal não sofrer pressão de seleção para a puberdade precoce, não haverá antecipação da puberdade até que os animais adquiram uma idade cronológica inerente à limitação da própria raça.

Dessa forma, Costa (2008) relata que as novilhas possuem uma idade mínima à puberdade geneticamente pré-determinada. Dita idade pode ser influenciada quando a seleção é feita para o desenvolvimento ponderal, e não é acompanhada da seleção para precocidade sexual, fato que, poderia ocorrer no presente rebanho e explicaria os valores obtidos para esta classe de animais.

Resaltando que, no presente estudo, os animais foram criados fora do ambiente mais adequado para si.

Já na classe 2 houve maior presença de corpo lúteo nos ovários das novilhas, indicando a puberdade para a maioria das fêmeas (76,5 %) atingida entre 12 e 14 meses de idade. Ressalta-se que esta faixa etária para idade à puberdade mostra-se tardia para a raça, e possivelmente se deva às causas anteriormente expostas. Visto que, os animais foram púberes na segunda classe, as correlações entre as características estudadas mudaram, não havendo mais as correlações negativas verificadas na classe 1. Nesta classe, as correlações altas entre diâmetro dos maiores folículos e corpos lúteos com diâmetro dos ovários indicam maior atividade por parte das gônadas femininas, fato evidenciado pela diferença do maior diâmetro do ovário direito para os animais da classe 2.

Bondurant (1999) relatou que o útero de fêmeas bovinas cíclicas e não gestantes, se encontram usualmente sob o efeito da progesterona, na fase lútea, a qual tem maior duração que a fase folicular (SENGER, 2003). A progesterona influencia diminuindo a espessura endometrial entre um a três dias depois da ovulação, se mantendo assim durante o diestro (PIERSON e GINTHER, 1987; JIMENEZ et al., 2009). A correlação do diâmetro do corno uterino com a espessura endometrial foi média, demonstrando o desenvolvimento paralelo dessas características nas fêmeas durante o período de crescimento ou faixa etária dos animais (classe 1 para a classe 2). A menor espessura endometrial para fêmeas da classe 2 se deve provavelmente à maior concentração de progesterona, liberada pelo corpo lúteo, os quais estiveram ausentes na maioria dos animais da classe 1. Porém, não houve correlação negativa entre o diâmetro do CL e a espessura endometrial, o qual não corrobora os relatos de estudos anteriores (SOUZA et al., 2011) e gera dúvidas em relação ao funcionamento endometrial nesta classe. A maturidade sexual, segundo Almeida et al. (2013), não é sinônimo de puberdade, mas sim dependente dela, sendo eventos em cascata, e atingida após três ou quatro ciclos estrais consecutivos após o primeiro estro. No presente estudo, se considerou que as classes 3 e 4 de animais seriam compostas por animais sexualmente maduros, o que foi confirmado pela ciclicidade dos animais. Dessa forma, na classe 3, as correlações entre o diâmetro dos cornos uterinos e espessuras endometriais foram altas, indicando maior

desenvolvimento e atividade dessa camada uterina. Indicando maior amadurecimento dos órgãos genitais, constatado no maior diâmetro do útero, dos ovários e do tamanho dos folículos e corpo lúteo do ovário esquerdo, porém, sem apresentar diferença dos valores médios registrados para as fêmeas da classe 2. Correlação do diâmetro dos ovários com diâmetro de seus folículos mostraram também maior crescimento e diâmetro dos folículos em ovários de maiores diâmetro (Tabela 4). Houve correlações negativas de médias a altas entre o diâmetro dos corpos lúteos com as características mensuradas no útero, mostrando que o endométrio dos animais da classe 3, foi mais responsivo às concentrações de progesterona, corroborando o estudo de Bó et al. (2004) que relatam maiores concentrações de progesterona para corpos lúteos de maior área. Entretanto, Chacur et al. (2009) não verificaram diferença entre área do corpo lúteo e concentração de progesterona em vacas zebuínas.

Os menores valores para a espessura endometrial relacionado a maiores diâmetros de corpo lúteo, corroboram os estudos de Pierson e Ginther (1987), Jimenez et al. (2009) e Souza et al. (2011) os quais verificaram que entre um e três dias após a ovulação, a espessura endometrial diminui, saindo da fase proliferativa para a fase secretora. Na classe 4 (Tabela 4), o desenvolvimento uterino como um todo continuou, fato constatado nas altas correlações dos diâmetros dos cornos uterinos ($r= 0,7$), das espessuras endometriais ($r= 0,8$) e entre as duas características ($r= 0,7$).

A altura dos animais apresentou correlação negativa e média com diâmetro do maior folículo do ovário esquerdo ($r= -0,5$) e com diâmetro do corpo lúteo do ovário direito ($r= -0,8$). Assim, pode-se entender que os animais continuaram crescendo nesta faixa etária, porém as estruturas ovarianas também, mas em taxas de crescimento menores e diâmetro folicular final restringido, não conseguindo aumentar conjuntamente com a altura. O mesmo caso foi observado para o peso corporal dos animais e diâmetro dos ovários esquerdos ($r= -0,7$). Estes ovários, por sua vez, mostraram-se influenciados pela presença e diâmetro dos corpos lúteos ($r= 0,7$). O mesmo comportamento foi verificado com o diâmetro dos maiores folículos presentes no ovário esquerdo ($r= 0,7$). Estes comportamentos não foram observados nas novilhas em faixas etárias inferiores ou classes 2 e 3, possivelmente pelo aumento no número de estruturas presentes

nos ovários das fêmeas da classe 4.

Adicionalmente, observou-se correlação do diâmetro do corno uterino esquerdo com diâmetro do corpo lúteo nos ovários esquerdos e direitos ($r = -0,9$ e $r = -0,86$, respectivamente) e espessura endometrial do corno uterino esquerdo com diâmetro do corpo lúteo nos ovários esquerdos ($r = -0,9$), sendo compatível com a fisiologia uterina já relatada. Entretanto, essas correlações negativas foram mais altas nesta fase do que nas anteriores, indicando maior influência do corpo lúteo, considerando que o seu diâmetro foi igual nas outras classes, ou então que a camada endometrial foi mais responsiva às concentrações de progesterona liberadas pelo corpo lúteo. No entanto, analisando as correlações obtidas neste estudo envolvendo todas as faixas etárias ou classes de animais, houve correlações de modo geral com as características reprodutivas. Assim, o diâmetro do corpo lúteo influenciou positivamente o diâmetro ovariano, e negativamente o diâmetro e espessura endometrial dos cornos uterino, fato explicado pela fisiologia uterina durante o ciclo estral. As características mensuradas do útero apresentaram correlações médias a altas entre si (Tabela 2) indicando desenvolvimento homogêneo do útero como um todo, ou uma harmonia das mudanças dele durante o ciclo estral.

Segundo Anderson et al. (1991), normalmente a seleção de novilhas de reposição é feita visualmente, de acordo com seu tipo e ou fenótipo. Entretanto, nem sempre estas características estão relacionadas à eficiência reprodutiva. Desde modo, como pode ser constatado no presente estudo, a implementação de programas de seleção para precocidade sexual devem ser aplicadas associadas aos programas de seleção ponderal e produtiva. Tais observações corroboram com estudos anteriores que verificaram que o fator genético pode influenciar a taxa de crescimento e o peso corporal na manifestação da puberdade (JONES et al., 1991; HAFEZ e HAFEZ, 2004; SÁ FILHO et al., 2008). No entanto, outros estudos têm demonstrado correlação do desenvolvimento dos órgãos genitais (incluindo o diâmetro dos cornos uterinos) com taxas mais elevadas de ganho de peso diário, peso corporal, e com escore de condição corporal (MONTANHOLI et al., 2004; RATHMANN, 2005; ROBSON et al., 2007; MONTANHOLI et al., 2008). Da mesma forma, Holm et al. (2009) verificaram as mesmas correlações; porém, salientam que o desenvolvimento dos órgãos genitais tem maior correlação com

fertilidade.

CONCLUSÕES

Em novilhas da raça Holandesa, entre os nove aos 20 meses de idade, criadas em condições tropicais e em manejo de *Tie-Stall* conclui-se que:

O desenvolvimento ponderal e o sexual ocorrem de forma assincrônica nos animais mais jovens (9 -11 meses), sendo o ponderal mais acelerado.

A puberdade de animais de fêmeas da raça Holandesa nas condições tropicais se manifesta entre as faixas etárias de 12 a 15 meses de idade causando conseqüentemente atraso na maturidade sexual; e

Uma vez atingida a puberdade, o desenvolvimento ponderal e sexual é sincrônico, com maximização do aumento da espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, O.M.; PINHO, R.O.; LIMA, D.M.A.; MARTINS, L.F. Endocrinologia da puberdade em fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano XI, n. 20, p. 1-13, 2013.

ANDERSON, K.J.; LEFEVER, D.G.; BRINKS, J.S.; ADDE, K.G. The use of reproductive tract score in beef heifers. **Agri-practice**, v. 12, n. 4, p. 19-26, 1991.

BELLO, A.; ONYEANUSI, B.I.; SONFADA, M.L.; ADEYANJU, J.B.; UMARU, M.A. A biometric study of the digestive tract of one-humped camel (*Camelus dromedarius*) fetuses. **Scientific Journal of Zoology**, v. 1, n.1, p. 11- 16, 2012.

BÓ, G.A.; CUTAIA, I. BARUSELLI, P.S. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 1., 2004, Londrina. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, p. 56-81, 2004.

BONDURANT, R.H. Inflammation in the bovine female reproductive tract. **Dairy Science**, v. 82 (Suppl. 2), 1999.

CARDONA J.A.; MONTES J.C.; CASTAÑO F.A, BLANCO R.D.; LEÓN V.E.G. Frequência da dermatobiose cutânea bovina em vacas da raça Holandesa de uma granja leiteira de Viçosa (MG, Brasil). **Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia**, v. 8, n. 1, p. 82-94, 2013

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G.P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos Ciências Veterinaria e Zootecnia.**, v. 10, n. 1, p. 59-67, 2007.

CHACUR, M.G.M.; OBA, E.; KRONKA, S.N. Correlações entre morfometria ovariana e hormônios em vacas zebus não prenhes. **Archivos Zootecnicos**, v. 58 n. 223, p. 467-470, 2009.

CIENFUEGOS-RIVAS, R.E.; OLTENACU, R.W.; BLAKE, S.J.; SCHWAGER, H.; CASTILLO-JUAREZ; RUIZ, F.J. Interaction between milk yield of Holstein cows in Mexico and the United States. **Journal Dairy Sciences**, v. 82, p. 2218, 1999.

CONAB, COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO; IGEB, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Leite e derivados**, 2013.

COSTA, A. N. L. Sincronização do estro e ovulação em novilhas Girolandas: comparação entre dois protocolos hormonais, "CIDR-B" E "OVSYNCH". **Revista de Ciências Agronômicas**. v. 39, n. 1, p. 137- 141, 2008.

EMERICK, L.L.; DIAS, J.C.; GONÇALVES, P.E.M.; MARTINS, J.A.M.; LEITE, T.G.; ANDRADE, V.J.; VALE FILHO, V.R. Aspectos relevantes sobre a puberdade em fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2009.

GONZALEZ, A.; PALLARES, P.; VAZQUEZ, M.I. Ultrasonographic Imaging in Small Ruminant Reproduction. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45 (Suppl. 2), p. 9–20, 2010.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal** (7ed). São Paulo. 2004. Manole, p. 319-329, 2004.

HOLM, D.E; THOMPSON, P.N.; IRONS, P.C. The value of reproductive tract scoring as a predictor of fertility and production outcomes in beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 87, p. 1934–1940, 2009.

JIMENEZ-KRASSEL F.; FOLGER J.K.; IRELAND J.L.H.; SMITH G.W.; HOU X.; DAVIS J.S.; LONERGAN P.; EVANS A.C.O.; IRELAND J.J. Evidence That high variation in ovarian reserves of healthy young adults has a negative impact on the corpus luteum and endometrium during estrous cycles in cattle. **Biology Reproduction**, v. 80, n. 81, p.1272, 2009.

JONES, E. J.; ARMSTRONG, J. D.; HARVEY, R. W. Changes in metabolites, metabolic hormones, and luteinizing hormone before puberty in Angus, Bradford, Charolais, and Simmental heifers. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 1607-1615, 1991.

LAMMOGLIA, M.A.; BELLOWS, R.A.; GRINGS, E.E.; BERGMAN, J.W.; BELLOWS, S.E.; SHORT, R.E.; HALLFORD, D.M.; RANDEL, R.D. Effects of dietary fat and sire breed on puberty, weight, and reproductive traits of F1 beef heifers. **Journal Animal Science**, v. 78, p. 2244-2252, 2000.

MONTANHOLI, Y.R.; BARCELLOS, J.O.J.; BORGES, J.B.; DA COSTA, E.C.; WUNSH, C.; PRATES, E.R. Ganho de peso na recria e desempenho reprodutivo de novilhas acasaladas com sobreano. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 39, n. 12, p. 1253-1259, 2004.

MONTANHOLI, Y.R.; BARCELLOS, J.O.J.; DA COSTA, E.C.; Variação nas medidas corporais e desenvolvimento do trato reprodutivo de novilhas de corte recriadas para o acasalamento aos 18 meses de idade. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 185-190, 2008.

MONTEIRO, C.M.; FARIAS, E.C.; PERRI, S.H.; SOUZA, W.M. Estudo anatômico comparativo do útero e tubas uterinas de vacas e novilhas da raça Nelore (*Bos primigenius indicus*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 13-16, 2001.

MONTEIRO, F.M.; MERCADANTE, M.E.Z.; BARROS, C.M.; SATRAPA, R.A.; SILVA, J.A.V.; OLIVEIRA, L.Z.; SARAIVA, N.Z.; OLIVEIRA, C.S.; GARCIA, J.M. Reproductive tract development and puberty in two lines of Nellore heifers selected for postweaning weight. **Theriogenology**, v. 1, n. 8, p. 10-17, 2013.

NRC – NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7ed. National Academy Press**, p. 381, 2001.

PIERSON, R.A. E GINTHER, O.J. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. **Journal American Veterinary Medicine Animal**, v. 190, N. 8, p. 995-1001, 1987.

RATHMANN, R.J. **Effects of conventional or low bull to female ratio and utilization of reproductive tract scores in extensively managed, natural mating breeding groups**. Submitted to the Office of Graduate Studies of Texas A&M University in partial fulfillment of the requirements for the degree of master of science, 2005.

ROBSON, C.; MAGLIETTI, C.; LÓPEZ VALIENTE, S.; VOGEL, O.; CELSER. grado de desarrollo reproductivo (gdr): su utilización en vaquillas entoradas a los 18 meses. **Mercedes, Corrientes, Noticias y Comentarios**, n. 417, p. 1-4, 2007.

RODRIGUES, H. D.; KINDER, J. E.; FITZPATRIK, L. A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at differing ages. **Biology Reproduction**, v. 66, p. 603-609, 2002.

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

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MEDALHA, A. G.; BARUSELLI, P. S. Biotecnologia da reprodução em bovinos. In: **Simpósio Internacional De Reprodução Animal Aplicada**, 3. Londrina, Anais p. 54-67, 2008.

SARTORI, R. E GUARDIEIRO, M.M. Fatores nutricionais associados à reprodução da fêmea bovina. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v. 39, p. 422-432, 2010.

SENGER, P.L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.ed. Washington: Current Conceptions, p. 60, 2003.

SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P.; GÜMEN, A.; AYRES, H.; BRUSVEEN, D.J.; GUENTHER, J.N.; WILTBANK, M.C. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v. 75, p. 722–733, 2011.

VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M.; SANTOS, R.M. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34 (Supl 1), p. 9-16, 2006.

CAPITULO 3

Correlações da biometria uterina (diâmetro e espessura endometrial dos cornos uterinos) com a fase do ciclo estral em novilhas e vacas submetidas a diferentes protocolos de sincronização

RESUMO

Vários estudos reportam as mudanças das camadas uterinas ao longo das fases do ciclo estral, sendo as mesmas atribuídas às interações entre estrógenos e progesterona. A hormonioterapia baseia-se no controle e sincronização dos eventos que acontecem no ciclo estral, além de ser capaz de induzir a puberdade em novilhas pela exposição a concentrações de progesterona. O presente estudo objetivou avaliar as mudanças na biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos) sob o efeito de três e nove protocolos de sincronização de cio em 172 novilhas pré-púberes e 90 vacas adultas e solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo. Nos dias de colocação e retirada do dispositivo intravaginal de progesterona e no dia correspondente ao dia e horário da IATF, foram recuperados os ovócitos por meio de aspiração do folículo dominante ou de maior diâmetro. Após a aspiração, as fêmeas foram liberadas para reprodução na estação de monta da fazenda. Os dados quantitativos foram analisados por ANOVA e suas médias comparadas pelos testes de Tukey ou teste de Duncan, ou então pela análise não paramétrica com as médias comparadas pelo teste de Kruskal Wallis ou Wilcoxon. O teste de qui-quadrado foi empregado para avaliar os dados qualitativos. Considerou-se a probabilidade de 5 % de erro em todas as análises. Os protocolos à base de progesterona mostraram resultados satisfatórios para indução do crescimento folicular e taxa de gestação no estro subsequente de novilhas pré-púberes (68 %) e vacas (98 %) da raça Nelore criadas em regime extensivo, porém, não houve efeito dos protocolos para esses resultados, nem na taxa de crescimento folicular, nem para a qualidade dos ovócitos recuperados ($P>0,05$). Foram constatadas mudanças na biometria uterina em resposta aos protocolos de inseminação artificial. Assim, independentemente do status reprodutivo do animal, foram observados maiores valores para a biometria uterina no dia correspondente à IATF, em comparação à ocasião da

colocação e retirada dos dispositivos intravaginais ($P < 0,05$). Os protocolos de sincronização foram eficazes em induzir alterações uterinas; Na fase luteal do ciclo estral sob a influência da progesterona, são obtidas imagens ultrassonográficas do útero com menor espessura e hiper-ecogênicas, fato explicado pelo espessamento do epitélio glandular, além de ramificação e secreção das glândulas endometriais. Na fase folicular do ciclo estral sob influência do estrógeno, foram obtidas imagens ultrassonográficas do útero com maior espessura e hipo-ecogênicas, fato explicado pelo edema endometrial.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um país de destaque na produção de proteína de origem animal, por possuir o maior rebanho bovino comercial e o maior exportador de carne bovina, porém, superado em produção por países com melhor eficiência na pecuária de corte (CORDENONSI et al., 2012). O rebanho é composto por 80 % de animais de raças zebuínas, principalmente a raça Nelore, classificada como da espécie *Bos taurus indicus* (CORDENONSI et al., 2012) para as quais existia o mito de apresentar puberdade em idades mais avançadas ou tardias (FERRAZ e ELER, 2007) acarretando perdas econômicas.

Características que avaliem diretamente a precocidade sexual das fêmeas não têm sido empregadas como critério de seleção nos programas de melhoramento, provavelmente, pela sua dificuldade de mensuração e interpretação (ALBUQUERQUE e BALDI, 2010). Entretanto, sem pressão de seleção para precocidade da puberdade, ela será cronológica, inerente à limitação da própria raça (EIMERICK et al., 2009). Contudo, alguns trabalhos têm mostrado o uso de seleção em raças zebuínas com idades de prenhez aos 14, 16 e 18 meses (SEMMELMANN et al., 2001; SILVA et al., 2005; SHIOTSUKI et al., 2009).

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi desenvolvida para controlar as fases luteínicas e foliculares do ciclo estral. Os protocolos mais comuns estão baseados no uso de GnRH ou dispositivos intravaginais de progesterona, mais estradiol e prostaglandina (BARUSELLI et al., 2012). Segundo Pfeifer et al. (2009), o emprego de progesterona pode antecipar a puberdade, visto que, reduz o *feedback* negativo do estradiol no hipotálamo.

No presente estudo objetivou-se avaliar a puberdade e o comportamento de fêmeas bovinas da raça Nelore (novilhas e vacas) em resposta à fase do ciclo estral utilizando diferentes protocolos de sincronização de estro em tempo fixo por meio das mensurações da biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos).

MATERIAL E MÉTODOS

Localização

O experimento foi realizado na Fazenda Derribadinha localizada no município de Carlos Chagas, Minas Gerais (18°51' latitude sul e 41°55' longitude oeste), caracterizada pela concentração das precipitações no verão, e período seco no inverno.

Os animais foram criados e mantidos em manejo extensivo, em piquetes com pastagens predominantes de *Brachiaria decumbens*, sal mineral e água *ad libitum*. A estação de monta tem uma duração de cinco meses, com o experimento acontecendo entre os meses de novembro/2013 a março/2014. Posteriormente, em maio de 2014, foram feitas as avaliações ginecológicas para diagnóstico de gestação.

Aspecto ético

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais-CEUA da Universidade Federal de Viçosa, protocolo N° 88/2013 e sua execução sob a responsabilidade do Médico Veterinário Laércio dos Anjos Benjamin.

Animais e tratamentos

No presente estudo foram utilizadas 262 fêmeas de raça Nelore, divididas em dois grupos experimentais de acordo com a categoria animal:

Experimento 1: 172 novilhas selecionadas independentemente do seu peso (uma semana antes do início do experimento) e estado reprodutivo (púberes ou pré-púberes) com média de 24 meses de idade e escore médio de condição corporal de 2,7 (escala de 1 a 5; sendo 1= magro e 5= obesa; Com aumentos de 0,25 segundo DIAS, 1991).

As fêmeas foram submetidas a três protocolos diferentes de sincronização, descritos na tabela 1. Foram utilizados dispositivos intravaginais de diferentes concentrações de progesterona (0,75 e 1,0 g de progestágeno). O benzoato de estradiol (BE) no início do protocolo (d0) foi usado com doses de 2 mg, e 1 mg no d9, ou 1 mg de cipionato de estradiol (ECP) no d7. A dose utilizada de PMSG

(eCG) foi de 400 UI e de Dinoprost Trometamina (PGF₂α) foi de 10 mg. Todas as aplicações foram feitas via intramuscular profunda. Todos os protocolos foram programados para fazer OPU entre 54 e 60 horas após a retirada do DIP e a aplicação da dose de PGF₂α (d9 ou d10).

Tabela 1. Protocolos de sincronização em novilhas da raça Nelore, criadas extensivamente.

Protocolo	d0	d1	d2	d3	d4	d5	d6	d7	d8	d9	d10
1	DIP+BE							XDIP+ PGF ₂ α +eCG+ECP		OPU	
2	DIP+BE								XDIP+ PGF ₂ α +eCG	BE*	OPU
3	DIP*+BE							XDIP+ PGF ₂ α +eCG+ECP		OPU	

DIP: Dispositivo intravaginal de progesterona (0,75 g); **DIP*:** Dispositivo intravaginal de progesterona (1,35 g); **BE:** Benzoato de estradiol (2 mg); **XDIP:** Retirada do dispositivo intravaginal de progesterona; **PGF₂α:** Prostaglandina F 2 α(10 mg); **eCG:** Hormônio coriônico equino (400 UI); **ECP:** Cipionato de estradiol (1mg); **BE*:** Benzoato de estradiol (1 mg); **OPU:** aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal do folículo de maior diâmetro.

Experimento 2: 90 vacas adultas e solteiras, distribuídas aleatoriamente em seis grupos, e submetidas a seis diferentes protocolos de sincronização (Tabela 2); todos a base de dispositivos intravaginais com progesterona (0,75g).

Tabela 2. Protocolos de sincronização em vacas adultas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente.

Protocolo	d0	d1	d2	d3	d4	d5	d6	d7	d8	d9	d10
4	DIP+GnrH								XDIP +PGF ₂ α	GnrH	OPU
5	DIP+BE						PGF ₂ α		XDIP+ECP		OPU
6	DIP+BE								XDIP+PGF ₂ α + eCG+ECP		OPU
7	DIP+BE								XDIP+PGF ₂ α + eCG+BE		OPU
8	DIP+BE								XDIP+PGF ₂ α +eCG	BE	OPU
9	DIP+BE								XDIP+PGF ₂ α	BE	OPU

DIP: Dispositivo intravaginal de progesterona (0,75 g); **GnrH:** Acetato de busarelina ; **BE:** Benzoato de estradiol (2 mg); **PGF₂α:** Prostaglandina F 2 α(10 mg); **XDIP:** Retirada do dispositivo intravaginal de progesterona; **ECP:** Cipionato de estradiol (1mg); **eCG:** Hormônio coriônico equino (400 UI); **OPU:** aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal do folículo de maior diâmetro.

Foram utilizados DIPs de 0,75 g de progestágenos. O BE no início do protocolo (d0) foi usado com dose de 2 mg, e 1 mg no d8 ou d9 dependendo do protocolo. A dose utilizada de Dinoprost Trometamina (PGF₂α) foi de 10 mg, de

cipionato de estradiol 1 mg, e de PMSG (eCG) foi de 400 UI. No protocolo quatro o BE foi trocado por 2 mL de acetato de buserelina (GnRH). Todas as aplicações foram feitas via intramuscular profunda. Todos os protocolos foram programados para fazer OPU entre 54 e 60 horas após a retirada do DIP e a aplicação da dose de PGF₂α (d10).

Momentos das mensurações e colheitas de sangue

Nas novilhas e vacas em ambos experimentos foram feitos mensurações de espessura endometrial, diâmetro uterino e atividade ovariana no início de todos os protocolos (dia da colocação do DIP), onde os animais não tinham ainda influência dos hormônios empregados. O mesmo procedimento foi realizado no dia da retirada do DIP. No último dia do protocolo, correspondente ao horário da IATF, foi realizada aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal e as mesmas mensurações dos cornos uterinos e diâmetro do folículo dominante. As amostras de sangue foram colheitadas nos três manejos para determinação da concentração de progesterona.

Amostras de sangue e análises laboratoriais

Antes da aplicação de hormônios, foram coletadas amostras de sangue por venopunção da veia coccígea usando tubos com vácuo heparinizados (15 mL). Após a colheita, o sangue foi colocado na posição vertical até completar 3 horas em caixas isotérmicas com gelo, e centrifugado a 3000 G por 15 minutos em temperatura ambiente, para separação do soro. As amostras de soro foram mantidas em gelo no máximo por 6 horas até serem estocadas em freezer a -20 °C, para posterior realização das dosagens de progesterona.

As análises laboratoriais foram realizadas nos laboratórios de Reprodução Animal - DVT/UFV e Melhoramento Genético Animal - DZO/UFV. As concentrações plasmáticas de progesterona foram determinadas pelo método quimioluminescente, técnica imunoenzimática com kits Access® (Beckman Coulter) e os procedimentos realizados de acordo com as recomendações do fabricante.

No presente trabalho somente foram utilizadas as amostras de sangue colheitadas das vacas por questões de financiamento para a compra dos kits.

Biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos) e atividade ovariana

Exames ultrassonográficos via transretal dos órgãos genitais foram feitas para avaliar o seu desenvolvimento (Aparelho MINDRAY® Dp2200, acoplado a um transdutor linear 75L50EAV na frequência de 7,5 MHz). Imagens ultrassonográficas dos ovários foram congeladas para obter seu diâmetro, assim como o diâmetro das estruturas nele presente (folículo de maior diâmetro ou corpo lúteo quando presente). Posteriormente, foram obtidas imagens de cortes transversais de ambos cornos uterinos na primeira região do útero (desde a bifurcação até a curvatura maior uterina).

Procurou-se evitar erros que gerassem imagens fora do padrão comum da anatomia dos órgãos genitais. Dessa maneira, o transdutor foi posicionado de tal forma que fosse obtido a maior superfície de contato sem chegar a deformar o corno por causa de pressão excessiva, e o seu posicionamento sempre foi 90° de inclinação e perpendicular em relação ao corno. Nessas imagens foi obtido o diâmetro do corno uterino pela média de duas mensurações perpendiculares da largura do útero. Da mesma forma, a espessura endometrial foi mensurada, sendo considerada como a distância da camada visualizada desde o lume uterino até a interface do miométrio (SOUZA et al., 2011). Para ter maior acurácia, foi obtida a média da mensuração da camada endometrial dorsal e ventral. Medidas divergentes em mais de um milímetro entre as duas camadas foram consideradas erradas e realizadas novamente.

Foi realizado perfil folicular dos ovários no dia de início do protocolo e no dia da retirada do DIP para posterior mapeamento e mensuração do diâmetro do maior folículo. No dia e horário correspondentes à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) o folículo pré-ovulatório foi mensurado para calcular a taxa de crescimento.

Recuperação do ovócito do folículo dominante

No momento correspondente à IATF, foram recuperados os ovócitos de folículos dominantes ou pré-ovulatórios, por meio da técnica de aspiração folicular guiada por ultrassonografia com o uso de guia transvaginal (OPU), aparelho e probe micro convexa MINDRAY®, frequência de 8,0 MHz. Foi utilizada agulha de

aspiração folicular 40x9 (20 G) ligada a circuito de aspiração acoplado à rolha de aspiração e tubo Falcon® para depositar o ovócito aspirado. A rolha era ligada a uma bomba de vácuo que gerava no sistema pressão negativa (80 mmHg ou 15 mL/min) para aspiração do líquido e do ovócito contido no folículo.

Após a aspiração do folículo, o ovócito foi rastreado e classificado no líquido folicular colheitado com ajuda de um microscópio estereoscópio em aumento de (40 x). A classificação foi realizada segundo Stringfellow e Givens (2010) em escores de I a IV, de acordo com as características morfológicas do ovócito.

No estro subsequente ao da sincronização os animais foram inseminados 12 horas após a detecção do estro (método de TRIMBERG e DAVIS, 1943). A partir de 15 dias após a IA as fêmeas foram manejadas por três meses com touros de repasse em regime de monta natural. Estes últimos classificados como aptos à reprodução por meio de exame andrológico.

Diagnóstico de gestação

Avaliação ginecológica para o diagnóstico de gestação foi realizado por meio de exames ultrassonográficos via transretal (Aparelho MINDRAY® Dp2200, acoplado a um transdutor linear 75L50EAV, frequência de 7,5 MHz). A taxa de prenhez foi obtida 45 dias após o encerramento da estação de monta.

Análise estatística

Todos os dados foram submetidos à estatística descritiva com obtenção das médias, desvios-padrão e coeficiente de variação. Os dados quantitativos foram submetidos aos testes de Lilliefors e de Cochran e Bartlett, para verificar respectivamente, a normalidade dos dados e a homogeneidade das variâncias. A análise de variância (ANOVA) foi usada para avaliações de todos os dados que atenderem às premissas da ANOVA. Os testes de Tukey ou Duncan foram empregados para comparação das médias e quando os dados não atenderam as premissas da ANOVA (normalidade dos dados e homogeneidade da variâncias), os dados foram avaliados por meio de análise não paramétrica e as médias comparadas pelos testes de Kruskal Wallis ou Wilcoxon, empregando-se 5 % de probabilidade de erro. Quando os valores de variação foram superiores a 15 %,

empregou-se o teste de Duncan, no intuito de evitar o erro estatístico tipo II. Os dados obtidos no diagnóstico de gestação foram arranjados em tabela de contingência e analisados pelo teste de qui-quadrado, com 5% de probabilidade de erro. Correlações Simples de Pearson foram realizadas entre todas as características estudadas.

RESULTADOS

Experimento 1: No início da fase experimental, após as avaliações ginecológicas foi constatado pela presença do corpo lúteo que 6,39 % (11/172) das novilhas tinham alcançado a puberdade (Tabela 3).

Tabela 3. Frequência da presença de corpos lúteos em novilhas da raça Nelore, criadas extensivamente e avaliadas no dia de início de três protocolos de sincronização

Protocolo	1	2	3	TOTAL
# Corpos lúteos	1/53	3/59	7/60	11/172
Porcentagem (%)	1,6	5,1	11,6	6,4

Protocolo 1: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **Protocolo 2:** d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de PGF₂ α e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **Protocolo 3:** d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU.

Na tabela 4 está apresentado o resultado da média dos valores obtidos ao longo dos protocolos de sincronização para as características de biometria uterina e ovariana, divididas por protocolo. Assim como o escore de condição corporal (ECC) e peso das novilhas utilizadas.

As fêmeas foram distribuídas aleatoriamente nos três protocolos e apresentaram ECC médio de $2,7 \pm 0,5$. Mesmo assim, os animais do protocolo 1 apresentaram o menor ECC ($2,3 \pm 0,3$), as fêmeas do protocolo 2 apresentaram ECC médio ($2,5 \pm 0,4$) e as fêmeas do protocolo 3 apresentaram o maior ECC ($3,3 \pm 0,1$; $P < 0,05$). As novilhas apresentaram peso corporal entre 265 e 380 kg com média de $325 \pm 20,1$ kg. Porém, não houve diferença estatística entre os animais dos três protocolos para o peso, nem para a biometria uterina e ovariana.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão do peso, escore de condição corporal e biometria uterina e ovariana, em mm, de novilhas pre-púberes da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização.

Protocolo	1	2	3	Média
Características				
ECC**	2,3±0,3 C	2,5±0,4 B	3,3±0,1 A	2,7±0,5
PESO	328,4±22,7	324,4±17,5	323,8±22,4	325,1±20,1
DCE**	16,1±2,7	15,7±2,3	16,1±2,7	15,9±2,6
EECE	4,6±1,0	4,6±1,1	4,7±1,1	4,6±1,1
DCD	16,6±2,7	16,0±2,5	16,3±2,7	16,2±2,6
EECD	4,6±1,0	4,7±1,1	4,7±1,1	4,7±1,1
FOSE	12,2±6,0	10,8±6,7	10,4±5,9	11,0±6,2
DFOE**	7,6±2,4	7,8±2,2	8,4±3,9	8,4±3,1
FOECIRC	20,9±6,9	23,2±7,2	24,6±9,6	23,4±8,3
FOSD*	11,1±6,4	9,0±5,3	9,8±6,1	9,9±5,9
DFOD	8,6±2,1	8,9±2,2	8,6±2,4	8,7±2,3
FODCIRC	24,6±6,0	26,8±6,4	26,0±8,8	25,9±7,4

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; pelo teste de Duncan (*); ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **Protocolo 1:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e ECP; d9= OPU; **Protocolo 2:** d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **Protocolo 3:** d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e ECP; d9= OPU; **ECC:** Escore de condição corporal, escala de I a IV; **PESO:** Peso vivo em Kg; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE:** Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOECIRC:** Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD:** Número de folículos no ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **FODCIRC:** Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Os valores do dia da colocação e retirada do DIP e o dia da OPU, apresentaram correlações médias entre ECC e diâmetro do folículo direito ($r = 0,4$); diâmetro do corno uterino esquerdo e sua espessura endometrial ($r = 0,4$), diâmetro do corno uterino oposto ($r = 0,5$) e a circunferência do maior folículo do ovário direito ($r = 0,5$).

Não foram constatadas correlações dos valores da biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos) entre os diferentes dias do protocolo de sincronização (dia da colocação e retirada do DIP e o dia da OPU; Tabela 5).

Tabela 5. Correlações Simples de Pearson entre os diferentes dias de sincronização para ECC, peso e biometria dos cornos uterinos em novilhas da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização

	ECC	PESO	DCE 0	DCE 1	DCE 2	DCD 0	DCD 1	DCD 2	EEC E0	EEC E1	EEC E2	EEC D0	EEC D1	EEC D2	CRE SFO L	DG
ECC	1,0	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0,2	-0,1	0,2	NS	-0,2	0,2	NS	NS
PESO		1,0	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCE0			1,0	NS	NS	0,7	NS	NS	0,5	NS	NS	0,5	NS	NS	NS	NS
DCE1				1,0	NS	0,1	0,7	0,2	NS	0,5	NS	NS	0,4	0,1	NS	NS
DCE2					1,0	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCD0						1,0	0,1	NS	0,5	NS	NS	0,5	NS	NS	NS	NS
DCD1							1,0	0,3	NS	0,5	0,2	NS	0,5	0,2	-0,2	NS
DCD2								1,0	NS	NS	0,6	NS	NS	0,6	NS	NS
EECE 0									1,0	NS	NS	0,7	NS	0,2	NS	NS
EECE 1										1,0	NS	NS	0,6	NS	NS	NS
EECE 2											1,0	NS	NS	0,7	NS	NS
EECD 0												1,0	NS	NS	NS	NS
EECD 1													1,0	NS	NS	NS
EECD 2														1,0	NS	NS
CRES FOL															1,0	NS
DG																1,0

ECC: Escore de condição corporal escala de 1 a 5; **PESO:** Peso corporal em Kg; **DCE0:** Diâmetro do corno esquerdo no dia da colocação do DIP; **DCE1:** Diâmetro do corno esquerdo no dia da retirada do DIP; **DCE2:** Diâmetro do corno esquerdo no dia da OPU; **DCD0:** Diâmetro do corno direito no dia da colocação do DIP; **DCD1:** Diâmetro do corno direito no dia da retirada do DIP; **DCD2:** Diâmetro do corno direito no dia da OPU; **EECE0:** Espessura endometrial do corno esquerdo no dia da colocação do DIP; **EECE1:** Espessura endometrial do corno esquerdo no dia da retirada do DIP; **EECE2:** Espessura endometrial do corno esquerdo no dia da OPU; **EECD0:** Espessura endometrial do corno direito no dia da colocação do DIP; **EECD1:** Espessura endometrial do corno direito no dia da retirada do DIP; **EECD2:** Espessura endometrial do corno direito no dia da OPU; **CRESFOL:** Crescimento do foliculo de maior tamanho desde o dia da retirada do DIP até o dia da OPU; **DG:** Diagnóstico de gestação.

No dia da colocação do DIP (Tabela 6), a espessura endometrial do corno uterino esquerdo foi maior para os animais do protocolo 3 ($P < 0,05$), coincidindo com os animais que apresentaram melhor ECC ($P < 0,05$; Tabela 4).

Tabela 6. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização, avaliadas no dia da colocação do DIP.

Protocolo	1	2	3	Média
Características				
DCE**	13,0±1,9	13,9±2,1	13,7±2,1	14,6±8,3
EECE*	3,7±0,9 B	4,1±0,8 AB	4,2±0,7 A	4,2±0,8
DCD	13,5±2,1	14,2±2,2	13,9±1,8	14,1±2,0
EECD	3,8±0,8	4,3±1,0	4,2±0,8	4,2±0,9
FOSE	8,7±4,6	7,4±4,5	8,5±4,6	8,1±4,6
DFOE	6,2±2,5	7,8±2,8	7,8±2,9	1,5±2,7
FOECIRC	18,1±7,2	23,9±8,5	24,9±9,8	22,7±9,2
FOSD	7,4±5,1	6,8±4,6	7,3±3,5	6,6±3,8
DFOD	8,6±2,2	9,1±2,2	9,0±2,7	8,5±2,6
FODCIRC	26,1±6,6	27,8±7,0	27,8±11,6	26,5±10,6

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; pelo teste de Duncan (*); ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 1**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, eCG e ECP; d9= OPU; **Protocolo 2**: d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **Protocolo 3**: d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, eCG e ECP; d9= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE**: Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOECIRC**: Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD**: Número de folículos no ovário direito; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **FODCIRC**: Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Nesta mesma avaliação, foi constatada correlação alta entre o diâmetro do corno uterino esquerdo e sua espessura endometrial ($r=0,7$) e média com o diâmetro do folículo do ovário direito ($r=0,5$). Foi constatado o mesmo comportamento entre o diâmetro do corno direito e sua espessura endometrial ($r=0,6$) e com o diâmetro do folículo do ovário direito ($r=0,4$).

No dia da retirada do DIP (Tabela 7), os animais já se encontravam sob efeito da progesterona exógena. A única diferença observada nas características avaliadas foi na espessura endometrial dos cornos uterinos, que se mostraram inferiores para os animais do protocolo 3 ($P < 0,05$). As demais variáveis se mostraram homogêneas e sem diferenças entre si ($P > 0,05$).

Tabela 7. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana, em mm, de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização, avaliadas no dia da retirada do DIP.

Protocolo	1	2	3	Média
Características				
DCE	15,8±1,8	16,2±1,6	16,0±1,5	15,9±1,4
EECE	4,3±0,7 A	4,5±0,8 AB	4,0±0,8 B	4,2±0,7
DCD	16,4±2,1	16,2±1,6	16,3±1,6	16,4±1,8
EECD*	4,3±0,9 A	4,5±0,8 A	4,0±0,7 B	4,3±0,8
FOSE**	14,3±5,7	14,3±6,8	12,0±6,4	13,5±6,3
DFOE**	7,8±1,6	7,5±1,7	8,2±4,8	7,8±2,7
FOECIRC	23,9±5,2	22,4±5,6	22,9±10,1	21,3±6,2
FOSD	13,4±6,1	11,3±5,0	12,1±7,0	11,7±5,9
DFOD	7,7±1,7	8,1±1,8	7,8±1,9	7,1±1,5
FODCIRC	23,3±5,4	24,9±5,7	23,2±5,2	21,2±4,5

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; pelo teste de Duncan (*); ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 1**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **Protocolo 2**: d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de PGF₂α e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **Protocolo 3**: d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE**: Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOECIRC**: Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD**: Número de folículos no ovário direito; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **FODCIRC**: Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Nesta mesma avaliação houve correlação alta do diâmetro do corno esquerdo e sua espessura endometrial ($r = 0,6$) e média com o diâmetro do corno oposto ($r = 0,5$). O mesmo comportamento foi verificado para o diâmetro do corno direito e sua espessura endometrial ($r = 0,7$). Este último corno apresentou também correlação média com a circunferência do folículo do ovário ipsilateral ($r = 0,4$).

No dia da OPU (Tabela 8) foram verificados os maiores valores médios para diâmetro de cornos uterinos, e conseqüentemente para a espessura endometrial no protocolo 3 ($P < 0,05$). Foram verificados valores inferiores na espessura endometrial de ambos cornos para os animais dos protocolos 1 e 2 ($P < 0,05$), sendo similares entre si ($P > 0,05$). No protocolo 3 verificaram-se os maiores valores médios para o diâmetro dos folículos de maior tamanho presentes no ovário esquerdo, entretanto, estes valores diferiram somente dos valores médios obtidos no protocolo 2 ($P < 0,05$).

Tabela 8. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização, avaliadas no dia da OPU.

Protocolo	1	2	3	Média
Características				
DCE*	18,2±1,9 A	17,2±1,8 B	18,6±1,8 A	18,0±1,9
EECE*	5,1±0,8 B	5,3±1,2 B	5,8±0,9 A	5,4±1,0
DCD	18,5±1,7 AB	17,5±2,4 B	18,7±2,0 A	18,2±2,1
EECD*	5,2±0,9 B	5,2±1,1 B	5,9±0,8 A	5,5±1,0
DFOE**	9,4±1,7 A	8,2±1,1 AB	11,1±2,8 AC	9,6±1,8
DFOD	10,0±1,9	9,7±2,3	9,3±2,4	9,6±2,2

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **OPU:** Aspiração do folículo dominante ou de maior diâmetro; **Protocolo 1:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **Protocolo 2:** d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de PGF₂α e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **Protocolo 3:** d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Nesta mesma avaliação houve correlações médias dos diâmetros uterinos com suas espessuras endometriais ($r = 0,5$ para ambos), e da espessura endometrial do corno direito com o diâmetro do folículo esquerdo ($r = 0,4$).

Na tabela 9 estão apresentados os resultados dos valores médios da biometria uterina e ovariana por manejo (dia de colocação e retirada do DIP e dia da OPU). Nela, o diâmetro dos cornos e a espessura endometrial do corno esquerdo mostraram valores inferiores no dia da colocação do DIP e maiores no dia da OPU ($P < 0,05$).

Tabela 9. Valores médios e desvio padrão por manejo das biometrias uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas a três protocolos de sincronização.

Manejo	DCE**	EECE**	DCD	EECD	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	14,6±8,3 A	4,1±0,8 A	13,9±2,0 B	4,2±0,9 A	7,5±2,8	8,9±2,4
Dia da retirada do DIP	16,0±1,6 B	4,3±0,8 AB	16,3±1,8 A	4,3±0,8 A	7,9±3,5	7,9±1,8
Dia da OPU	18,0±1,9 C	5,4±1,0 C	18,2±2,1 A	5,5±1,0 A	9,7±3,5	9,7±2,2

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **DIP:** Dispositivo intravaginal de progesterona; **OPU:** Aspiração do folículo dominante ou de maior diâmetro; **Protocolo 1:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **Protocolo 2:** d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de PGF₂α e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **Protocolo 3:** d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d9= OPU; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Da mesma forma, no protocolo 1 (Tabela 10) foram evidenciadas no dia da OPU os maiores valores para diâmetro do corno uterino esquerdo ($P < 0,05$). O

diâmetro do corno direito e diâmetro do folículo no ovário esquerdo apresentaram valores semelhantes entre o dia da OPU e o dia da retirada do DIP ($P>0,05$).

Tabela 10. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 1 de sincronização

Manejo	DCE	EECE*	DCD	EECD	DFOE*	DFOD
Dia da colocação do DIP	16,1±2,7 C	3,7±0,9	13,52±2,1 B	3,9±0,8	6,2±2,5 B	8,6±2,2
Dia da retirada do DIP	15,8±1,8 B	4,3±0,7	16,43±2,1 A	4,3±0,9	8,0±1,6 AB	7,7±1,7
Dia da OPU	18,2±1,9 A	5,1±0,8	18,2±1,7 A	5,2±0,9	9,4±1,7 A	10,0±1,9

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **OPU**: Aspiração do folículo dominante ou de maior diâmetro; **Protocolo 1**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d7; Retirada do DIP, aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e ECP; d9= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 2 (Tabela 11) foi verificada diferença para o diâmetro dos cornos uterinos e espessura endometrial, com valores inferiores no dia da colocação do DIP, e maiores no dia da OPU ($P<0,05$). A espessura endometrial do corno direito mostrou também os maiores valores no dia da OPU ($P<0,05$). Foram verificados também valores inferiores do folículo do ovário direito no dia da retirada do DIP em relação ao dia da colocação do DIP ($P<0,05$).

Tabela 11. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 2 de sincronização

Manejo	DCE	EECE*	DCD	EECD*	DFOE	DFOD*
Dia da colocação do DIP	13,9±2,1 C	4,1±0,8 C	14,2±2,2 C	4,3±1,0 B	7,8±2,8	9,0±2,2 A
Dia da retirada do DIP	16,2±1,6 B	4,5±0,8 B	16,2±1,6 B	4,5±0,8 B	7,5±1,7	8,1±1,8 B
Dia da OPU	17,2±1,8 A	5,3±1,2 A	17,5±2,4 A	5,2±1,1 A	8,2±1,1	9,7±2,3 A

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **OPU**: Aspiração do folículo dominante ou de maior diâmetro; **Protocolo 2**: d0= Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8=Retirar DIP e aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ e eCG; d9= Aplicação de BE; d10= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 3 (Tabela 12) foram verificados valores inferiores no dia da colocação do DIP para o diâmetro dos cornos uterinos, com valores maiores para espessura endometrial e diâmetro dos cornos no dia da OPU ($P<0,05$).

Tabela 12. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de novilhas pré-púberes da raça Nelore criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 3 de sincronização

Manejo	DCE	EECE	DCD	EECD	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	16,7±2,1 C	4,3±0,7 B	13,9±1,8 C	4,2±0,8 B	7,8±2,9	9,0±2,6
Dia da retirada do DIP	16,0±1,5 B	4,0±0,8 B	16,3±1,6 B	4,0±0,7 B	8,2±4,8	7,8±1,9
Dia da OPU	18,6±1,8 A	5,8±0,9 A	18,7±2,0 A	5,9±0,8 A	11,1±2,8	9,3±2,4

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **OPU**: Aspiração do folículo dominante ou de maior diâmetro; **Protocolo 3**: d0= Colocação do DIP (1,35 g)+BE; d7= Retirar DIP e aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e ECP; d9= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Experimento 2: Foi verificada a ciclicidade de 82% das vacas pluríparas e solteiras utilizadas no estudo por meio da presença do corpo lúteo. A frequência de corpos lúteos nos diferentes protocolos de sincronização foi de 73,3 % no protocolo 4, 73,3 % no 5, 80 % no 6, 93,3 % no 7, 80 % no 8 e 93,3 % no protocolo 9 (Tabela 13).

Tabela 13. Frequência da presença de corpos lúteos em vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e avaliadas no dia de início de seis protocolos de sincronização

Protocolo	4	5	6	7	8	9	TOTAL
Corpos lúteos	11/15	11/15	12/15	14/15	12/15	14/15	74/90
Porcentagem (%)	73,3	73,3	80	93,3	80	93,3	82,2

Protocolo 4: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+GnrH; d8=retirada do DIP e aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$; d9=aplicação de GnrH; d10=OPU **Protocolo 5:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d6= Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$; d8= Retirada do DIP e aplicação de ECP; d10= OPU **Protocolo 6:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e ECP; d10= OPU; **Protocolo 7:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e BE; d10= OPU; **Protocolo 8=** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ e eCG; d9= BE; d10= OPU; **Protocolo 9:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$; d9= BE; d10= OPU

Na tabela 14 estão sumarizados os valores médios obtidos ao longo dos protocolos de sincronização para a biometria uterina e ovariana, divididas por protocolo.. A média do escore da condição corporal (ECC) foi de $3,1 \pm 0,6$. Os animais com maior ECC foram verificados no protocolo 5 ($3,5 \pm 0,7$; $P < 0,05$), com ECC semelhante aos animais do protocolo 6 ($P > 0,05$). Os animais dos protocolos 4, 8 e 9 apresentaram valores intermediários de ECC, sendo similares entre si ($P > 0,05$). Os valores inferiores foram verificados nos animais do protocolo 7 ($2,8 \pm 0,6$; $P < 0,05$).

O número de folículos no ovário esquerdo não deferiu entre os animais dos diferentes protocolos ($P > 0,05$). Entretanto, o diâmetro e circunferência do folículo do mesmo ovário foram maiores nos animais do protocolo 5 e 6 e

inferiores no 7 ($P < 0,05$). Valores intermediários e semelhantes entre si foram verificados para as mesmas características nos protocolos 4, 8 e 9 ($P > 0,05$).

Tabela 14. Valores médios e desvio padrão do escore de condição corporal e biometria uterina e ovariana em mm de vacas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.

Protocolo	4	5	6	7	8	9	Média
Características							
ECC*	3,0±0,6 BC	3,5±0,7 A	3,4±0,6 AB	2,8±0,6 C	3,1±0,5 BC	3,0±0,4 BC	3,1±0,6
DCE	21,2±3,0	23,6±4,0	23,2±6,3	22,5±4,0	23,1±11,3	22,1±4,4	22,6±6,1
EECE	5,4±1,4	5,5±1,2	5,4±1,2	5,2±1,3	4,8±1,2	5,4±1,3	5,3±1,3
DCD	21,6±3,8	24,5±4,7	23,6±3,6	22,8±4,3	22,1±3,7	22,4±4,3	22,8±4,1
EECD	5,2±1,3	5,4±1,3	5,8±1,7	5,3±1,3	5,1±1,1	5,3±1,3	5,3±1,3
FOSE	10,4±6,5	12,8±6,3	11,4±6,8	12,9±6,4	14,5±8,4	12,6±5,4	12,4±6,5
DFOE*	9,5±2,4 BC	14,2±6,3 A	11,6±3,3 AB	7,1±3,3 C	9,9±2,6 BC	10,6±3,4 B	10,8±4,2
FOECIRC*	29,9±11,8 B	40,7±11,4 A	36,5±16,3 AB	15,3±2,4 C	28,9±8,6 B	30,9±12,0 AB	31,8±11,8
FOSD*	10,6±6,2	14,6±7,4	10,8±8,5	10,3±7,2	14,1±10,6	14,5±8,6	12,5±8,3
DFOD*	11,2±3,1	11,8±4,5	12,8±3,4	11,2±2,9	11,5±3,4	11,1±2,8	11,6±3,4
FODCIRC*	34,6±10,4	34,4±17,8	41,1±11,5	34,2±10,1	30,4±13,0	33,3±7,1	34,1±12,3

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **Protocolo 4:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+GnrH; d8=retirada do DIP e aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$; d9=aplicação de GnrH; d10= OPU **Protocolo 5:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d6= Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$; d8= Retirada do DIP e aplicação de ECP; d10= OPU **Protocolo 6:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e ECP; d10= OPU; **Protocolo 7:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$, eCG e BE; d10= OPU; **Protocolo 8=** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ e eCG; d9= BE; d10= OPU; **Protocolo 9:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$; d9= BE; d10= OPU; **ECC:** Escore de condição corporal, escala de I a IV; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE:** Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOECIRC:** Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD:** Número de folículos no ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **FODCIRC:** Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Foi verificada ao longo dos protocolos de sincronização, correlação média entre diâmetro do corno esquerdo e sua espessura endometrial ($r = 0,5$) e alta entre o diâmetro do corno direito e sua espessura endometrial ($r = 0,7$). Da mesma forma, foi verificada correlação média entre o diâmetro do corno esquerdo e a circunferência do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo ($r = 0,5$).

Não foram constatadas correlações dos valores da biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos) nos diferentes manejos dos protocolos de sincronização (dia da colocação e retirada do DIP e o dia da OPU), com o crescimento folicular, nem com a taxa de gestação (Tabela 15).

Tabela 15. Correlações Simples de Pearson entre os diferentes dias de sincronização para ECC, idade, biometria dos cornos uterinos e taxa de crescimento folicular em vacas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.

	ECC	IDADEANO	DCE0	DCE1	DCE2	DCD0	DCD1	DCD2	EECE0	EECE1	EECE2	EECD0	EECD1	EECD2	CRESFOL	DG
ECC	1,0	NS	NS	NS	0,2	0,2	NS	NS	NS	NS	0,2	NS	NS	0,3	NS	NS
IDADEANO		1,0	0,3	NS	0,2	0,1	0,3	0,2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCE0			1,0	NS	0,2	0,2	NS	0,2	0,2	NS	0,2	NS	NS	NS	NS	NS
DCE1				1,0	NS	0,2	0,6	NS	0,2	0,6	NS	0,2	0,6	0,2	NS	NS
DCE2					1,0	0,2	NS	0,7	NS	NS	0,6	NS	NS	0,5	NS	NS
DCD0						1,0	NS	NS	0,4	NS	NS	0,6	NS	NS	NS	NS
DCD1							1,0	NS	NS	0,3	NS	0,3	0,6	0,3	NS	NS
DCD2								1,0	NS	NS	0,5	NS	NS	0,6	-0,2	NS
EECE0									1,0	NS	NS	0,7	NS	NS	NS	NS
EECE1										1,0	NS	NS	0,7	0,2	-0,2	NS
EECE2											1,0	NS	NS	0,7	NS	NS
EECD0												1,0	NS	NS	NS	NS
EECD1													1,0	NS	NS	NS
EECD2														1,0	NS	NS
CRESFOL															1,0	NS
DG																1,0

ECC: Escore de condição corporal escala de I a V; **IDADEANO:** Idade em anos dos animais; **DCE0, DCE1, DCE2:** Diâmetro do corno esquerdo no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **DCD0, DCD1, DCD2:** Diâmetro do corno direito no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **EECE0, EECE1, EECE2:** Espessura endometrial do corno esquerdo no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **EECD0, EECD1, EECD2:** Espessura endometrial do corno direito no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **CRESFOL:** Crescimento do folículo de maior tamanho desde o dia da retirada do DIP até o dia da OPU; **DG:** Diagnostico de gestação.

No dia da colocação do DIP (Tabela 16) foram verificados para o diâmetro do corno esquerdo valores semelhantes entre os protocolos 4, 5, 6, 7 e 8 ($P > 0,05$); e inferiores para o protocolo 9 ($p < 0,05$). Para o diâmetro do corno direito foram verificados os maiores valores nos animais do protocolo 5, 6 e 7 ($P < 0,05$), sendo semelhantes entre si ($P > 0,05$). Os valores inferiores para a mesma característica foram verificados no protocolo 9, que apresentou valores semelhantes ao protocolo 4 e 8 ($P > 0,05$).

Tabela 16. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização, avaliadas no dia da colocação do DIP.

Protocolo	4	5	6	7	8	9	Média
Características							
DCE **	19,2±2,6 A	22,6±3,6 AB	21,1±2,3 AB	20,3±3,4 A	24,2±1,7 A	17,9±1,7 C	20,9±8,1
EECE	4,8±1,6	5,1±1,0	5,04±7,8	5,1±1,3	4,2±0,7	4,4±0,8	4,8±1,1
DCD	19,2±1,9 CD	22,7±1,7 A	21,5±2,5 AB	21,2±3,3 ABC	19,6±1,9 BCD	18,9±2,0 D	20,6±2,6
EECD	4,8±1,5	5,1±0,5	5,1±0,9	5,2±1,4	4,5±0,7	4,2±0,9	4,8±1,1
FOSE	7,8±2,8	9,7±5,3	8,4±3,9	11,4±6,6	11,0±5,5	10,4±4,1	10,3±6,9
MFOE	9,1±2,5	16,2±8,8	12,8±1,7	4,8±1,6	10,4±3,5	6,0±0,7	7,2±3,3
FOSD	8,5±4,1	9,7±6,1	7,4±1,1	9,0±7,3	7,3±5,5	7,0±3,0	11,0±8,6
MFOD	10,6±4,1	14,1±8,2	12,8±3,8	10,3±3,9	10,1±4,5	12,7±0,0	9,6±4,0

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 4**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+GnrH; d8=retirada do DIP e aplicação de PGF₂α; d9=aplicação de GnrH; d10= OPU **Protocolo 5**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d6= Aplicação de PGF₂α; d8= Retirada do DIP e aplicação de ECP; d10= OPU **Protocolo 6**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d10= OPU; **Protocolo 7**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e BE; d10= OPU; **Protocolo 8**= d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α e eCG; d9= BE; d10= OPU; **Protocolo 9**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α; d9= BE; d10= OPU; **ECC**: Escore de condição corporal, escala de I a IV; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE**: Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD**: Número de folículos no ovário direito; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Na mesma avaliação foi verificada correlação média entre o diâmetro do corno uterino direito e sua espessura endometrial ($r = 0,5$).

No dia da retirada do DIP não houve diferença nos valores obtidos para as características estudadas na biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos), nem ovarianas (número de folículos e diâmetro do folículo de maior tamanho para cada ovário; $P > 0,05$). Ditos valores encontram-se sumarizados na tabela 17.

Tabela 17. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização, avaliadas no dia da retirada do DIP.

Protocolo	4	5	6	7	8	9	Média
Características							
DCE	20,9±2,5	21,2±2,7	21,4±3,6	21,2±2,4	20,6±3,9	20,9±1,5	20,2±2,0
EECE	5,1±0,9	4,7±0,8	4,9±1,3	4,6±0,8	4,7±0,8	5,3±1,1	5,2±1,3
DCD	20,5±4,0	22,2±2,1	22,4±3,4	20,4±2,9	22,1±2,5	21,3±2,7	21,1±2,0
EECD	4,8±1,0	4,5±0,9	5,0±1,9	4,6±0,9	5,0±0,8	5,5±1,0	5,0±1,1
FOSE	13,3±6,2	15,0±6,2	13,5±7,6	133,7±6,4	16,3±9,2	14,3±5,8	14,5±5,8
DFOE **	9,9±2,7	13,5±5,5	11,0±4,7	6,9±0,0	8,9±1,7 A	10,5±3,1	10,±2,9
FOSD	11,8±7,0	17,4±6,7	13,3±8,5	11,1±7,3	18,8±10,4	16,4±8,6	15,2±8,5
DFOD	12,2±3,7	9,9±3,0	12,1±3,0	11,8±2,6	11,0±3,2	10,1±2,3	9,5±2,8

(P>0,05) pelo teste de Tukey; **: (P>0,05) pelo teste de Kruskal Wallis; **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 4**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+GnrH; d8=retirada do DIP e aplicação de PGF₂α; d9=aplicação de GnrH; d10=OPU **Protocolo 5**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d6= Aplicação de PGF₂α; d8= Retirada do DIP e aplicação de ECP; d10= OPU **Protocolo 6**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d10=OPU; **Protocolo 7**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e BE; d10= OPU; **Protocolo 8**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α e eCG; d9= BE; d10= OPU; **Protocolo 9**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α; d9= BE; d10= OPU; **ECC**: Escore de condição corporal, escala de I a IV; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE**: Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD**: Número de folículos no ovário direito; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Na mesma avaliação foram verificadas correlações médias entre o diâmetro dos cornos uterinos e suas espessuras endometriais (r= 0,5).

Nas avaliações feitas no dia da OPU (Tabela 18) foram verificados, para o diâmetro do corno uterino direito, valores inferiores nos animais do protocolo 8. Porém, semelhantes aos valores obtidos nos protocolos 4, 6, 7 e 9 (P>0,05). Os maiores valores para a mesma característica foram obtidos nos animais do protocolo 5. Porém, semelhantes aos obtidos no protocolo 4, 5, 7 e 9 (P>0,05).

Foi verificado um comportamento similar para a espessura endometrial do corno direito. Sendo que, os valores mínimos foram verificados nos animais dos protocolos 4, 7 e 8. Os maiores valores para dita característica foram verificados nos animais do protocolo 6. Os valores verificados para a mesma característica nos animais dos protocolos 5 e 9 foram intermediários e semelhantes aos obtidos nos demais protocolos de sincronização (P>0,05).

Tabela 18. Valores médios e desvio padrão da biometria uterina e ovariana em mm de vacas pluríparas e solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização, avaliadas no dia da OPU.

Protocolo	4	5	6	7	8	9	Média
Características							
DCE **	23,4±2,4	26,9±3,2	27,1±9,1	25,8±3,8	24,3±3,7	27,5±2,5	25,9±4,8
EECE	6,2±1,1	6,6±0,9	6,1±1,1	5,9±1,4	5,6±1,4	6,4±0,9	6,1±1,2
DCD	25,0±2,4 AB	28,6±6,0 A	26,9±2,3 AB	26,7±3,5 AB	24,7±4,3 B	27,1±2,9 AB	25,5±3,8
EECD*	6,1±0,9 B	6,7±1,1 AB	7,1±1,1 A	6,0±1,3 B	5,8±1,2 B	6,3±1,2 AB	6,3±1,2
DFOE	9,3±2,0	12,6±2,7	11,6±1,7	10,1±3,2	10,2±2,2	12,0±3,5	11,3±2,7
DFOD **	10,7±2,6	12,7±2,1	13,6±3,9	10,8±3,2	12,9±2,7	12,4±2,2	12,2±2,8
CRESFOL	0,5±0,4	1,0±0,8	1,0±0,7	1,0±0,9	1,8±1,2	1,0±0,8	1,1±0,87

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Tukey; pelo teste de Duncan (*); ou pelo teste de Kruskal Wallis (**); **Protocolo 4:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+GnrH; d8=retirada do DIP e aplicação de PGF₂α; d9=aplicação de GnrH; d10= OPU **Protocolo 5:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d6= Aplicação de PGF₂α; d8= Retirada do DIP e aplicação de ECP; d10= OPU **Protocolo 6:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d10= OPU; **Protocolo 7:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e BE; d10= OPU; **Protocolo 8=** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α e eCG; d9= BE; d10= OPU; **Protocolo 9:** d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α; d9= BE; d10= OPU; **ECC:** Escore de condição corporal, escala de I a IV; **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **CRESFOL:** Crescimento folicular.

Na mesma avaliação foi verificada correlação média do diâmetro entre o corno uterino direito e sua espessura endometrial ($r= 0,4$).

Na tabela 19 estão apresentados os resultados dos valores médios da biometria uterina e ovariana por manejo. As concentrações de progesterona foram superiores no dia da colocação do DIP e diminuíram até o dia da OPU ($P<0,05$). As espessuras endometriais e diâmetro uterino do corno esquerdo apresentaram valores inferiores no dia da colocação do DIP ($P<0,05$) e superiores no dia da OPU e retirada do DIP. O diâmetro uterino do corno direito foi inferior no dia da colocação do DIP e superior no dia da OPU ($P<0,05$).

Tabela 19. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.

Manejo	P4	DCE	EECE	DCD	EECD	DFOE **	DFOD**
Dia da colocação do DIP	24,2±15,3 A	20,1±3,1 B	4,8±1,1 B	20,5±2,6 C	4,8±1,1 B	10,4±5,7	11,7±4,9
Dia da retirada do DIP	11,5±12,0 B	21,0±2,8 A	4,9±1,0 A	21,5±3,0 B	4,9±1,2A	10,8±3,9	11,0±3,0
Dia da OPU	4,8±8,3 C	25,5±3,4 A	6,2±1,2 A	26,5±4,0 A	6,3±1,2 A	11,3±2,7	12,2±2,8

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Tukey ou Duncan; * *: ($P>0,05$) pelo teste de Kruskal Wallis **DIP:** Dispositivo intravaginal de progesterona; **P4:** Concentrações de progesterona em sangue (ng/mL); **DCE:** Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Na tabela 20 encontram-se sumarizadas as correlações para concentrações séricas de progesterona, diâmetro de estruturas ovarianas, tamanho e classificação ovocitária, taxa de crescimento folicular e a biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos) entre os diferentes dias do protocolo de sincronização (dia da colocação e retirada do DIP e o dia da OPU).

Somente foi verificada correlação média do diâmetro do corno esquerdo no dia da retirada do DIP com o diâmetro do folículo de maior tamanho do ovário esquerdo o dia da OPU ($r= 0,4$).

Tabela 20. Correlações Simples de Pearson entre os diferentes dias de sincronização para concentrações séricas de progesterona, biometria dos cornos uterinos e estruturas ovarianas, tamanho e classificação ovocitária e taxa de crescimento folicular em vacas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas a seis protocolos de sincronização.

	P4-0	P4-1	P4-2	DFOE2	DCLOE2	DFOD2	DCLOD2	TAM	CLASSIF
P4-0	NS	NS	0.2	NS	NS	NS	NS	0.6	NS
P4-1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
P4-2	0.2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCE0	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCE1	NS	NS	-0.2	NS	NS	0.3	NS	NS	NS
DCE2	NS	-0.2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCD0	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
DCD1	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-0.3	NS
DCD2	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EECE0	0.3	-0.2	NS	NS	NS	NS	NS	0.3	NS
EECE1	-0.2	0.3	NS	0.4	NS	0.3	NS	NS	NS
EECE2	NS	NS	NS	0.4	-0.9	NS	NS	NS	NS
EECD0	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EECD1	-0.2	0.3	NS	NS	NS	0.3	NS	NS	NS
EECD2	NS	NS	NS	NS	NS	0.3	NS	NS	NS

P4-0, P4-1, P4-2: Concentrações séricas de progesterona no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **DCE0, DCE1, DCE2:** Diâmetro do corno esquerdo no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **DCD0, DCD1, DCD 2:** Diâmetro do corno direito no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **EECE0, EECE1, EECE2:** Espessura endometrial do corno esquerdo no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **EECD0, EECD1, EECD2:** Espessura endometrial do corno direito no dia da colocação do DIP, **no dia** da retirada do DIP e no dia da OPU, respectivamente; **DCLOE2:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário esquerdo no dia da OPU, caso estivesse presente; **DFOD2:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito no dia da OPU; **DCLOD2:** Diâmetro do corpo lúteo no ovário direito no dia da OPU, caso estivesse presente; **TAM:** Tamanho do ovócito recuperado do folículo de maior tamanho; **CLASSIF:** Classificação de I a IV do ovócito recuperado do maior folículo.

Os dados foram subdivididos por protocolo e por manejo com finalidade de avaliar melhor as mudanças da biometria uterina e ovariana. Dessa forma, no protocolo 4 (tabela 21) a biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro de ambos cornos uterinos) apresentou os maiores valores no dia da OPU ($P < 0,05$), com valores inferiores e semelhantes no dia da colocação e retirada do DIP ($P > 0,05$).

Tabela 21. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 4 de sincronização.

Manejo	DCE	EECE*	DCD	EECD*	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	19,2±2,6B	4,8±1,7B	19,2±1,9 B	4,8±1,5 B	9,1±2,5	10,6±4,1
Dia da retirada do DIP	20,9±2,5B	5,1±0,9B	20,5±4,0 B	4,8±1,0 B	9,9±2,7	12,2±3,7
Dia da OPU	23,47±2,4A	6,2±1,1A	25,0±2,4A	6,1±0,9 A	9,3±2,0	10,7±2,6

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 4**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+GnrH; d8=retirada do DIP e aplicação de PGF₂α; d9=aplicação de GnrH; d10= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno direito; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 5 (tabela 22), foram verificados os maiores valores para a biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro de ambos cornos uterinos) no dia da OPU ($P < 0,05$). O diâmetro de ambos cornos uterinos e a espessura endometrial do corno esquerdo apresentaram valores inferiores e semelhantes entre o dia da colocação e retirada do DIP. A espessura endometrial do corno direito apresentou valores inferiores no dia da retirada do DIP ($p < 0,05$).

Tabela 22. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 5 de sincronização.

Manejo	DCE*	EECE*	DCD	EECD*	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	22,6±3,6B	5,1±1,0B	22,6±1,7B	5,1±0,5B	16,2±8,8	14,1±8,2
Dia da retirada do DIP	21,2±2,7B	4,7±0,8B	22,2±2,1B	4,5±0,9C	13,5±5,5	9,9±3,0
Dia da OPU	26,9±3,2A	6,6±0,9A	28,6±5,9A	6,7±1,1A	12,5±2,7	12,7±2,1

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 5**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d6= Aplicação de PGF₂α; d8= Retirada do DIP e aplicação de ECP; d10= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 6 (tabela 23) foram verificados valores superiores no dia da OPU para a biometria uterina (espessura endometrial e diâmetro de ambos cornos

uterinos; $P < 0,05$), e valores inferiores e semelhantes no dia da colocação e retirada do DIP ($P > 0,05$).

Tabela 23. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 6 de sincronização.

Manejo	DCE*	EECE*	DCD	EECD*	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	21,1±2,3 B	5,0±0,8 B	21,5±2,5 B	5,1±0,9 B	12,8±1,7	12,8±3,8
Dia da retirada do DIP	21,4±3,6 B	4,9±1,3 B	22,4±3,4 B	5,0±1,9 B	11,0±4,7	12,1±3,0
Dia da OPU	27,1±9,1 A	6,1±1,1 A	26,9±2,3 A	7,1±1,1 A	11,6±1,7	13,6±3,9

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 6**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e ECP; d10= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 7 (tabela 24) foram verificados valores inferiores no dia da retirada do DIP para o diâmetro de ambos cornos uterinos ($P < 0,05$). A espessura endometrial obtida no dia da colocação do DIP apresentou valores intermédios e semelhantes com os obtidos no dia da retirada do DIP e da OPU ($P < 0,05$).

Tabela 24. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 7 de sincronização.

Manejo	DCE	EECE*	DCD	EECD	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	20,3±3,4 B	5,1±1,3 AB	21,2±3,3 B	5,2±1,4 AB	4,8±1,6	10,3±3,9
Dia da retirada do DIP	21,2±2,4 B	4,6±0,8 B	20,4±2,9 B	4,6±0,9 B	6,9±0,0	11,8±2,5
Dia da OPU	25,8±3,8 A	5,9±1,4 A	26,7±3,5 A	6,0±1,3 A	10,1±3,2	10,8±3,2

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 7**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α, eCG e BE; d10= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 8 (tabela 25) os valores médios do diâmetro do corno uterino esquerdo no dia da retirada do DIP foram inferiores aos valores registrados nos dias da retirada do DIP e aos do dia da OPU ($P < 0,05$), estes últimos não diferiram entre si ($P > 0,05$). A espessura endometrial do corno esquerdo e o diâmetro do corno direito apresentaram comportamentos semelhantes. Eles apresentaram valores intermediários e semelhantes o dia da retirada do DIP com os obtidos nos demais manejos ($P > 0,05$). O dia da colocação do DIP e da OPU foram verificados os valores inferiores e superiores respectivamente ($P < 0,05$). A espessura endometrial do corno direito apresentou valores superiores o dia da OPU ($P < 0,05$)

e valores inferiores e semelhantes entre si o dia da colocação e retirada do DIP ($P>0,05$).

Tabela 25. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 8 de sincronização.

Manejo	DCE**	EECE*	DCD	EECD*	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	24,2±1,7 A	4,2±0,7 B	19,6±2,0 B	4,5±0,7 B	10,4±3,5	10,1±4,5
Dia da retirada do DIP	20,6±3,9 B	4,7±0,8 AB	22,1±2,5 AB	5,0±0,8 B	8,8±1,7	11,0±3,2
Dia da OPU	24,3±3,7 A	5,6±1,4 A	24,7±4,3 A	5,8±1,2 A	10,2±2,2	12,9±2,7

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Tukey; pelo teste de Duncan (*); ou pelo teste Kruskal Wallis (**); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 8**= d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α e eCG; d9= BE; d10= OPU; **rDCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

No protocolo 9 (tabela 26) os valores médios para as características de diâmetro dos cornos uterinos esquerdo e direito e a espessura endometrial mostraram-se inferiores o dia da colocação do DIP e superiores o dia da OPU ($P<0,05$). A espessura endometrial do corno esquerdo apresentou valores superiores o dia da retirada do DIP e o dia da OPU ($P<0,05$), semelhantes entre si.

Tabela 26. Valores médios e desvio padrão por manejo da biometria uterina e ovariana em mm de vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas extensivamente e submetidas ao protocolo 9 de sincronização.

Manejo	DCE	EECE*	DCD	EECD*	DFOE	DFOD
Dia da colocação do DIP	17,9±1,7 C	4,4±0,8 C	18,9±2,0 C	4,2±0,9 B	6,0±0,7	12,7±0,00
Dia da retirada do DIP	20,8±1,5 B	5,3±1,1 B	21,3±2,7 B	5,5±1,0 A	10,5±3,1	10,6±3,0
Dia da OPU	27,5±2,2 A	6,4±0,9 A	27,1±2,9 A	6,3±1,2 A	12,0±3,5	12,4±2,2

Valores médios seguidos por letras maiúsculas na mesma linha diferem entre si ($P<0,05$) pelo teste de Tukey; ou pelo teste de Duncan (*); **DIP**: Dispositivo intravaginal de progesterona; **Protocolo 9**: d0=Colocação do DIP (0,75 g)+BE; d8= Retirada do DIP, Aplicação de PGF₂α; d9= BE; d10= OPU; **DCE**: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD**: Diâmetro do corno direito; **EECD**: Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD**: Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Aspiração folicular e diagnóstico de gestação

Os dados apresentados na tabela 27 mostram taxa de crescimento folicular das novilhas negativa nos animais dos três protocolos ($-0,8±2,2$ mm/hora), sem diferença entre eles ($P>0,05$). Nas vacas verificou-se taxa de crescimento positivo ($1,1±0,9$ mm/hora) sem diferença entre os valores médios obtidos nos diferentes protocolos de sincronização. Entretanto, esses valores diferiram dos valores médios verificados para o grupo de novilhas ($P<0,05$).

A qualidade ovocitária, determinada pela avaliação morfológica, não diferiu entre os diferentes protocolos de sincronização ($P>0,05$). As taxas de prenhez alcançadas também não apresentaram diferenças entre os animais dos diferentes protocolos ($P>0,05$). O total de novilhas prenhez no final do **experimento 1** foi 68 % (117/172) e de vacas prenhez no final do **experimento 2** foi 98,8 % (89/90).

Tabela 27. Valores médios da taxa de crescimento folicular (mm), qualidade ovocitária (escore I a IV) e taxa de prenhes (%) em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas a diferentes protocolos de IATF e criadas em regime extensivo.

Novilhas						Vacas							
PROT	CRESF*	Classificação Ovocitária**				Prenhes (%)***	PROT	CRESF	Classificação Ovocitária**				Prenhez (%)***
		1	2	3	4				1	2	3	4	
1	-0.5±1.9	3	2	2	0	32/53 (60,4)	4	0.4±0.4	2	0	0	0	15/15 (100)
2	-0.7±2.0	2	5	3	5	38/59 (64,4)	5	1.0±0.8	2	2	0	0	15/15 (100)
3	-1.1±2.6	5	0	3	1	47/60 (78,3)	6	1.0±0.7	1	1	3	0	15/15 (100)
							7	0.9±0.9	1	1	1	1	14/15 (93,3)
							8	1.8±1.2	2	0	1	0	15/15 (100)
							9	1.0±0.8	4	2	2	1	15/15 (100)
MÉDIA**	-0.8±2.2 a					117/172 (68,0)		1.1±0.9 b					89/90 (98,8%)

*: $P>0,05$ na mesma coluna, pelo teste de Tukey; **: $P>0,05$ na mesma linha, pelo teste de Tukey; ***: $P>0,05$ ou $P<0,05$ pelo teste de X(qui-quadrado) $gl=3,84$; **PROT**: Protocolo; **CRESF**: Crescimento por hora do foliculo de maior tamanho desde o dia da retirada do DIP ate o dia da OPU.

A partir da tabela 28, e até a tabela 31, são apresentadas todas as Correlações Simples de Pearson, de acordo com os manejos da sincronização, entre a biometria uterina e ovariana e demais características estudadas em novilhas nulíparas pré-púberes e vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo.

Tabela 30. Correlações Simples de Pearson das biometrias dos cornos uterinos, espessura endometrial e estruturas ovarianas em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas ao protocolo de IATF, obtidas na ocasião da retirada do dispositivo intravaginal do protocolo de sincronização.

Vacas \ Novas	DCE	EECE	DCD	EECD	FOSE	DFOE	FOECIRC	FOSD	DFOD	FODCIRC
DCE	1.0	0.5	0.7	0.4	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EECE	0.6	1.0	0.5	0.6	NS	NS	0.2	NS	NS	NS
DCD	0.5	0.3	1.0	0.5	NS	NS	NS	NS	NS	NS
EECD	0.5	0.7	0.6	1.0	NS	NS	NS	NS	NS	NS
FOSE	NS	NS	NS	NS	1.0	-0.3	-0.3	0.7	-0.3	-0.3
DFOE	NS	NS	NS	NS	NS	1.0	0.9	NS	NS	NS
FOECIRC	NS	NS	NS	NS	NS	0.7	1.0	NS	0.3	0.3
FOSD	-0.2	NS	NS	NS	0.5	NS	NS	1.0	-0.3	-0.3
DFOD	0.3	0.2	NS	0.3	-0.2	NS	NS	-0.3	1.0	0.9
FODCIRC	0.4	0.2	NS	NS	-0.2	NS	NS	-0.4	0.6	1.0

DCE: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **FOSE:** Número de folículos no ovário esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOECIRC:** Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **FOSD:** Número de folículos no ovário direito; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **FODCIRC:** Circunferência do folículo de maior tamanho no ovário direito.

Tabela 31. Correlações Simples de Pearson das biometrias dos cornos uterinos, espessura endometrial e estruturas ovarianas em novilhas e vacas da raça Nelore, submetidas ao protocolo de IATF, obtidas na ocasião da aspiração folicular do maior folículo.

Vacas \ Novas	DCE	EECE	DCD	EECD	DFOE	DFOD	CRESFOL
DCE	1.0	0.4	0.6	0.4	NS	NS	NS
EECE	0.5	1.0	0.5	0.6	0.3	NS	NS
DCD	0.5	0.5	1.0	0.6	-0.2	NS	NS
EECD	0.3	0.7	0.5	1.0	NS	NS	NS
DFOE	NS	NS	NS	0.4	1.0	NS	NS
DFOD	NS	NS	NS	0.3	NS	1.0	0.5
CRESFOL	NS	NS	-0.2	NS	NS	NS	1.0

DCE: Diâmetro do corno esquerdo; **EECE:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DCD:** Diâmetro do corno direito; **EECD:** Espessura endometrial do corno esquerdo; **DFOE:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo; **DFOD:** Diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário direito; **CRESFOL:** Crescimento do folículo de maior tamanho desde o dia da retirada do DIP até o dia da OPU.

DISCUSSÃO

A puberdade é a idade em que se manifesta o primeiro estro, acompanhado da primeira ovulação (WILTBANK et al., 1969). Assim, foi observado no **Experimento 1**, em novilhas da raça Nelore com 22 meses de idade, a ausência de corpo lúteo em 161 das 172 fêmeas utilizadas no experimento (93,6 %). Estudos de Souza et al. (1995) relatam média de idade à puberdade para raças zebuínas entre 22 e 36 meses. Porém, a idade à primeira

concepção no Brasil varia entre os 44 e 48 meses, indicando falta de precocidade na puberdade das fêmeas e atrasos na vida produtiva e reprodutiva das mesmas.

O resultado da baixa taxa de animais cíclicos aos 22 meses no presente estudo indica que há fatores influenciando a idade à puberdade, ou mesmo falta de pressão de seleção para esta característica (EIMERICK et al., 2009; ALMEIDA et al., 2013) tornando-as tardias. Porém, não foi possível obter o dado da idade à puberdade natural das novilhas do presente estudo, pelo fato de terem sido induzidas à puberdade.

No dia do início do experimento foram começados os três protocolos de sincronização. Porém, na primeira avaliação os animais não estavam sob o efeito de nenhum tipo de hormônio exógeno. Assim, as características estudadas neste manejo se mostraram semelhantes entre os três grupos, indicando homogeneidade nos animais, sendo a maioria deles pré-púberes (93,6 %). Segundo Wiltbank et al. (1969), a puberdade é influenciada por diversos fatores, principalmente nutricionais e genéticos (pela ingestão de nutrientes e taxa de crescimento somático). Esses fatores podem ser representados pela idade, peso e condição corporal, sendo associada mais ao peso corporal que à idade. Assim, quando o animal atinge o peso corporal necessário, entrará na puberdade independentemente da sua idade (EIMERICK et al., 2009).

Não foi observada diferença significativa dos valores médios para o peso corporal dos animais nos animais dos três protocolos. Mesmo assim, os pesos corporais mais altos corresponderam aos animais do protocolo 1 ($P > 0,05$). Porém, eles apresentaram também, valores mais baixos para diâmetro do corno uterino esquerdo ($13,0 \pm 1,9$ mm; $P > 0,05$), espessura endometrial do corno esquerdo ($3,7 \pm 0,9$ mm; $P < 0,05$), espessura endometrial e diâmetro do corno uterino direito ($13,5 \pm 2,1$ e $3,9 \pm 0,8$ mm; $P > 0,05$). Como também para diâmetro e circunferência do maior folículo do ovário esquerdo ($6,2 \pm 2,4$ e $18,1 \pm 7,2$ mm, respectivamente; $P > 0,05$) e do ovário direito ($8,6 \pm 2,2$ e $26,1 \pm 6,6$ mm, respectivamente; $P > 0,05$). Conseqüentemente com esses valores mais baixos, os animais do protocolo 1 apresentaram o escore de condição corporal mais baixo ($2,3 \pm 0,3$; $P < 0,05$).

Os valores descritos poderiam indicar uma altura maior nas novilhas do protocolo 1. Considerando que novilhas de maior estrutura corporal necessitam de

maiores taxas de ganho diário de peso para alcançar o peso corporal ótimo à puberdade do que novilhas de menor estrutura corporal (BARCELLOS et al., 2001) e justificando os valores inferiores para a biometria uterina e folicular.

No protocolo 2 foram observados valores médios para o escore de condição corporal ($2,5 \pm 0,4$; $P < 0,05$). Para a espessura endometrial do corno esquerdo ($4,1 \pm 0,8$; $P < 0,05$) foram verificados valores médios e semelhantes aos outros dois protocolos, de igual forma que para as demais biometrias uterinas e ovarianas estudadas ($P > 0,05$). Nos animais do protocolo 3 foram observados os maiores valores médios para espessura endometrial do corno esquerdo ($4,2 \pm 0,7$ mm; $P < 0,05$). Circunferência do folículo do ovário esquerdo ($24,9 \pm 9,8$ mm; $P > 0,05$), diâmetro e circunferência do maior folículo no ovário direito ($9,0 \pm 2,7$ e $27,8 \pm 11,6$ mm, respectivamente; $P > 0,05$). Esses valores coincidem com o maior escore de condição corporal entre os três grupos estudados ($3,3 \pm 0,1$; $P < 0,05$) com o menor peso corporal ($323,8 \pm 22,4$ kg; $P > 0,05$).

O peso corporal é utilizado em larga escala como método de avaliação do estado nutricional dos animais, pela praticidade e acuracidade de sua mensuração (DIAS, 1991). Sua associação com outras medidas visa corrigir as variações que existem entre diferentes biotipos, o que poderia mascarar a eficiência e a comparação da mensuração do peso corporal (JEFFERY e BERG, 1972; HOUGHTON et al., 1990). No presente trabalho, o peso corporal dos animais mesmo apresentando variações nos três grupos, não diferiu entre si ($P > 0,05$). Mesmo que a altura dos animais não tenha sido mensurada no experimento, resultados obtidos por Houghton et al. (1990) mostram que a avaliação visual da condição corporal permite boas avaliações quanto a relação peso/altura, sem a necessidade de contenção dos animais para as medições.

Os animais do protocolo 3 apresentaram pesos corporais semelhantes aos animais do protocolo 1 ($P > 0,05$); porém, com um ponto a mais no escore de condição corporal na escala de um a cinco ($P < 0,05$). Assim, de forma contrária ao caso do protocolo 1, os animais do protocolo 3 deveriam ter apresentado uma estrutura corporal menor.

O fato dos animais não terem atingido a puberdade ainda no início do experimento poderia explicar as poucas correlações observadas no começo dos

protocolos entre a biometria uterina e ovariana. As correlações médias do diâmetro dos cornos uterinos com suas espessuras endometriais ($r= 0,5$) mostram que o útero vem se desenvolvendo de forma homogênea. O número de folículos antrais maiores que 3 mm mostrou-se correlacionado entre ambos ovários ($r= 0,5$), indicando atividade ovariana bilateral. Houve também correlação alta (0,7) do diâmetro do maior folículo com a circunferência do maior folículo do ovário direito, fato que não foi verificado para o folículo de maior tamanho no ovário esquerdo. Possivelmente, pela baixa frequência da presença de folículos de maior tamanho (ou dominante) no ovário esquerdo. Lembrando que, para cada exame ginecológico foi mensurado unicamente o folículo de maior tamanho (ou dominante) independentemente da identificação gonadal (esquerda ou direita).

O aumento no número de animais dentro da fazenda (2,5 animais/hectare/ano), considerando que são mantidos em regime extensivo, foi agravado pelas condições de pastagens. Considerando que a Fazenda se encontrava afetada negativamente pela escassez de precipitações adequadas nos últimos três anos, incluindo o ano de execução do experimento. Dito fato, limitou a correta nutrição dos animais da faixa etária estudada. Conseqüentemente com repercussões que irão afetar a eficiência deles. Essas observações se respaldam pelo estudo de Barcellos et al. (2001) afirmando que em situações de menor disponibilidade de nutrientes, as novilhas de menor estrutura corporal podem alcançar mais facilmente a puberdade que as de maior estrutura corporal. Assim, em iguais condições, a novilha de menor tamanho pode alcançar mais rapidamente a puberdade. Adicionalmente, Valle et al. (1998) afirmam que vacas da raça Nelore de menor porte ou menor estrutura além de possuir menor exigência nutricional apresentam puberdade mais cedo.

Para atingir o peso corporal mínimo necessário à reprodução é preciso que novilhas sejam submetidas a um manejo nutricional adequado (SÁ FILHO et al., 2008). Deste modo, mesmo que os animais tenham potencial de precocidade ponderal e sexual (aspecto genotípico), o fator nutricional estaria limitando o desenvolvimento. Restringindo as condições necessárias para as Fêmeas expressar seu potencial genético de precocidade no desenvolvimento ponderal e sexual.

Dentro dos manejos dos protocolos, no dia da retirada do dispositivo

intravaginal (DIP) os valores médios obtidos para espessuras endometriais dos cornos uterinos apresentaram diferença entre os três protocolos ($P < 0,05$). Dhaliwal et al. (2002) relatam mudanças na camada endometrial, com predominância de hiperplasia glandular no endométrio sob o efeito da progesterona. Da mesma forma, Reeves et al. (1984) relatam que durante o diestro onde predomina a progesterona, não é observado líquido no lume uterino, e as imagens ultrassonográficas são hiperecogênicas. Esse aumento na ecogenicidade é causado pela diminuição do edema da fase folicular. Assim, o endométrio passa de um estágio proliferativo para um secretor, com espessamento do epitélio glandular, com ramificação, enovelamento e da secreção glandular (GRUNERT e GREGORY, 1989).

Foram observados valores semelhantes entre os animais do protocolo 1 e 2, os quais usaram um DIP, monodose, com uma concentração de 0,75 gramas de progesterona ($P > 0,05$). Nos animais do protocolo 3 foi utilizado um DIP com uma concentração maior de progesterona (1,0 grama). Conseqüentemente, a espessura endometrial em ambos cornos foi inferior ($4,0 \pm 0,8$ e $4,0 \pm 0,7$ mm para o corno uterino esquerdo e direito, respectivamente; $P < 0,05$); corroborando os relatos de menor espessura endometrial sob o efeito da progesterona feitos por autores como Reeves e Haserb (1984) e Souza et al. (2011). Os valores médios para as demais características mensuradas se mostraram semelhantes nos três protocolos ($P > 0,05$).

Posteriormente à retirada do DIP, no protocolo 1, foi aplicado ECP mais eCG; no protocolo 2, BE mais eCG; e no protocolo 3, ECP mais eCG. Neste período, a atividade ovariana entra na fase folicular, ou proliferativa. com os órgãos genitais sob o efeito do estrogênio. Nesta fase, há predominância de células epiteliais secretoras de muco e a mucosa se torna espessa, congesta e edematosa. Entretanto, a proliferação glandular se limita a um crescimento linear das glândulas, sem ramificação ou enovelamento (PRIEDKALNS e LEISER, 1998; SENGER, 2003). Assim, foram verificadas nas avaliações ultrassonográficas, imagens dos cornos uterinos hipo-ecogênicas na camada endometrial, e muitas vezes anecóicas no lume uterino pela presença do muco.

O comportamento das características estudadas corrobora a fisiologia

relatada (Reeves e Haserb, 1984 e Souza et al., 2011). Assim, foram observados nos protocolos 1 e 3, desde o dia da retirada do DIP até o dia da aspiração folicular guiada por ultrassonografia transvaginal, um aumento na espessura endometrial e no diâmetro dos cornos uterinos ($P < 0,05$); independentemente do estado inicial das características estudadas no comoço dos protocolos. Já no protocolo 2, também foi observado aumento na biometria uterina no mesmo período de tempo; porém sem diferença estatística para espessura endometrial do corno uterino esquerdo, espessura endometrial e diâmetro do corno uterino direito ($P > 0,05$).

Dessa forma, no dia da aspiração folicular, comparando os valores médios obtidos nos diferentes protocolos, foram constatadas diferenças em todas as características avaliadas ($P < 0,05$) com exceção do diâmetro do maior folículo no ovário direito ($P > 0,05$). No protocolo 1, foram verificados os menores valores para espessura endometrial do corno esquerdo ($5,1 \pm 1,9$ mm), e espessura de corno uterino direito ($5,2 \pm 0,9$ mm). No protocolo 2 foram verificados os menores valores médios para diâmetro de ambos cornos uterinos, e valores médios para espessura endometrial dos cornos uterinos semelhantes aos valores obtidos para espessura endometrial nos animais do protocolo 1 ($P > 0,05$).

No protocolo 3, os valores médios registrados corroboram a fisiologia da fase folicular, apresentando em relação ao protocolo 1, maiores valores do diâmetro do corno uterino esquerdo ($18,6 \pm 1,8$ mm; $P < 0,05$); maior espessura endometrial do corno uterino esquerdo ($5,81 \pm 0,9$ mm; $P < 0,05$); maior diâmetro do corno uterino direito ($18,7 \pm 2$ mm; $P < 0,05$); maior espessura endometrial do corno uterino direito ($5,94 \pm 0,8$ mm; $P < 0,05$); e maior diâmetro do maior folículo no ovário esquerdo ($11,1 \pm 2,8$ mm; $P < 0,05$). Segundo Lisboa et al. (2013), a presença de um folículo de maior diâmetro no momento da inseminação é um indicador de melhor resposta ovariana e está relacionado à taxa de concepção em fêmeas bovinas submetidas a programas de IATF. DIAS et al. (2009) confirmaram o efeito positivo do diâmetro do maior folículo na probabilidade de concepção em novilhas da raça Nelore sincronizadas para IATF e justificaram tal observação ao aumento dos receptores de LH, melhor resposta à gonadotrofina e maturidade folicular. Dessa forma, a elevada concentração de estradiol pré-ovulatória é promovida pelo maior

diâmetro do folículo ovulatório (SA FILHO et al., 2010). Porém, dita correlação não foi feita no presente estudo.

Sá Filho et al. (2010) obtiveram índices satisfatórios de concepção quando o diâmetro do maior folículo no momento da IATF encontrava-se em torno de 13 a 15 mm. Porém, no presente estudo, os valores médios registrados nos três protocolos, no dia da aspiração folicular, para o diâmetro do maior folículo no ovário esquerdo foi de $9,6 \pm 1,8$ mm, e no ovário direito de $9,7 \pm 2,2$ mm. Da mesma forma, Perry et al. (2007) observaram que novilhas que ovularam folículos menores que 10,7 mm de diâmetro tiveram menor taxa de concepção comparada a novilhas que ovularam folículos maiores ou iguais a 12,8 mm. No presente estudo não foi verificado efeito do protocolo ou do diâmetro do folículo aspirado com a qualidade do ovócito recuperado.

A taxa de crescimento folicular nos protocolos aplicados nas novilhas foi negativa. Isso possivelmente iria causar falhas na ovulação. Tais registros corroboram aos estudos de Carvalho et al. (2008) que observaram uma grande proporção de folículos não ovulados em novilhas *Bos taurus indicus*, provavelmente devido à grande proporção de folículos imaturos ao final do protocolo hormonal. Todos esses acontecimentos, poderiam ser explicados pelo fato das fêmeas não ter atingindo a puberdade antes de ser submetidas aos protocolos de sincronização, e pela baixa qualidade nutricional refletido no baixo escore de condição corporal.

No presente estudo não houve efeito dos protocolos de sincronização para o número de animais induzidos à puberdade nem para a taxa de gestação. Rasby et al. (1998) observaram que o tratamento com progesterona por 7 dias foi capaz de induzir a ovulação, seguida de um corpo lúteo de duração normal. Da mesma forma, Pfeifer et al. (2009) verificaram que a exposição à progesterona por 8 dias foi suficiente para induzir a puberdade e taxa de gestação em 30 % dos animais estudados. O presente estudo corrobora que a exposição por 7 dias a concentrações de progesterona em dispositivos intravaginais foi efetivo para atingir a puberdade de alguns animais. Porém, a maior taxa de indução a puberdade com gestação de 68% das novilhas estudadas, poderia ser explicado pela estratégia da indução com o uso de DIPs, o tempo da estação de monta e as

melhoras na condição nutricional em dito tempo.

No presente estudo, não foram observadas correlações da biometria uterina, nem efeito do protocolo na qualidade do ovócito aspirado (folículo de maior tamanho, pré-ovulatório ou dominante). A média geral dos diâmetros dos cornos uterinos foi de $15,9 \pm 9,5$ mm para o corno uterino esquerdo e $16,2 \pm 2,6$ mm para o corno uterino direito, corroborando os valores médios da classificação 3 da tabela de grau de desenvolvimento dos órgãos genitais preconizada por Mihura e Cascaro (1999). Porém, não corroboram os valores de diâmetros uterinos superiores a 30 milímetros para fêmeas que atingiram a maturidade sexual, preconizados por Anderson et al. (1991). No **Experimento 2** foi constatada a ciclicidade de 74 das 90 fêmeas adultas e solteiras (82,2%) submetidas a seis protocolos de IATF diferentes.

Dessa forma, no começo dos protocolos o valor para diâmetro do corno esquerdo se mostrou semelhante entre os protocolos 4, 5, 6, 7 e 8 ($P > 0,05$), considerando que todos os animais eram maduros sexualmente. Porém, os animais do protocolo 5 apresentaram valores mais altos para esta característica ($22,6 \pm 3,6$ mm; $P < 0,05$), diferindo do protocolo 9 onde os animais apresentaram menores valores médios inferiores ($17,9 \pm 1,7$ mm). Da mesma forma no protocolo 5, os valores médios para o diâmetro do corno uterino direito foram maiores diferindo dos protocolos 4 ($19, \pm 1,9$ mm), 8 ($19,6 \pm 1,9$ mm) e 9 ($18,9 \pm 2,0$ mm) ($P < 0,05$); e valores médios semelhantes aos obtidos nos protocolos 6 e 7 ($P > 0,05$).

Conseqüentemente, o diâmetro do folículo de maior tamanho no ovário esquerdo e sua circunferência, foram maiores para as fêmeas do mesmo protocolo (5), e menor para as fêmeas do protocolo 9 ($P < 0,05$). Ressaltando que nesta primeira avaliação se encontravam sem efeito de hormônios exógenos nenhum. Os valores anteriormente relatados, inferiores para os protocolos 4, 7, 8 e 9 coincidem com valores inferiores de escore de condição corporal ($P < 0,05$). Da forma contrária, os maiores escores de condição corporal foram verificados nos animais do protocolo 5 e 6 com valores médios superiores para a biometria uterina e ovariana ($P < 0,05$).

Estimando o estado nutricional dos animais por meio de avaliação visual

e/ou tátil, Machado et al. (2008) observaram que os animais com melhor escore de condição corporal apresentaram também maior diâmetro dos cornos uterinos. Corroborando ditos relatos, no presente estudo, houve correlação do escore de condição corporal com o diâmetro e circunferência do maior folículo no ovário esquerdo ao longo do período experimental. Porém, não foi observada essa correlação no dia do começo dos protocolos, fato que pode ser explicado pela presença de corpos lúteos na maioria dos animais, limitando o desenvolvimento folicular, efeito da progesterona luteínica.

Mesmo existindo diferença dos escores de condição corporal, os valores se mantiveram entre $2,8 \pm 0,6$ e $3,5 \pm 0,7$, índices desejáveis para animais de corte na escala de um a cinco (DIAS et al., 1991). Lembrando a falta de precipitações pluviométricas que diminuiu as condições das pastagens na Fazenda. Dessa forma, a restrição alimentar crônica em vacas resultaria na redução acentuada da secreção de leptina, redução no escore da condição corporal que coincide com a diminuição na liberação de LH, não alcançando a ovulação (EIMERICK et al., 2009). Porém, as vacas apresentavam uma condição corporal boa, fato influenciado por serem solteiras, e estarem em piquetes de melhor condição do que as novilhas.

No dia da retirada do DIP, não houve diferenças entre os valores médios para as características avaliadas entre os protocolos ($P > 0,05$), lembrando que todos os dispositivos continham a mesma concentração de progesterona. A função deste hormônio coincidiu com imagens ultrassonográficas hiper-ecogênicas do endométrio e menor espessura do mesmo, fato que poderia ser justificado pela diminuição do edema endometrial da fase folicular; Assim como, pelo espessamento, ramificação e enovelamento do epitélio glandular com aumento na secreção das glândulas endometriais, passando de estágio proliferativo para secretor (GRUNERT e GREGORY, 1989). Dessa forma, em todos os protocolos observou-se diminuição nos valores médios da espessura endometrial desde o dia do começo dos protocolos (colocação do DIP) até o dia da retirada do DIP; independentemente da fase do ciclo estral em que os animais se apresentaram nesse primeiro dia. Deste modo, não se observou diferença entre os valores médios nos diferentes protocolos para espessura endometrial dos

cornos uterinos ($P>0,05$).

Já no dia da aspiração do folículo de maior tamanho ou dominante, os protocolos novamente se mostraram semelhantes para a maioria de características estudadas ($P>0,05$). O diâmetro do corno uterino direito e a espessura endometrial do mesmo corno, apresentaram valores maiores nos protocolos 5, 6 e 9 ($P<0,05$), coincidindo com os animais que mostraram valores superiores para escore de condição corporal, com biometrias uterinas e foliculares superiores no começo dos protocolos ($P<0,05$).

Foi verificado em todos os protocolos de sincronização, desde o dia da retirada do DIP até o dia da aspiração folicular, aumento da espessura endometrial e do diâmetro dos cornos uterinos. Nesta avaliação foram obtidas imagens hipocogênicas da camada endometrial uterina, assim como em alguns casos, imagens anecogênicas no lume uterino. Fatos que poderiam ser explicados pelos relatos da literatura da fase folicular, onde há predominância de células epiteliais secretoras de muco; proliferação glandular limitada a crescimento linear, sem ramificação ou enovelamento; e espessamento, congestão e edema da camada endometrial (PRIEDKALNS e LEISER, 1998; SENGER, 2003).

A presença de um folículo de maior diâmetro no momento da inseminação é indicador de melhor resposta ovariana e taxa de concepção em fêmeas *Bos taurus indicus* submetidas a programas de IATF (LISBOA et al., 2013). Da mesma forma, foram observadas taxas de crescimento positivas para os folículos dominantes, se encaixando na fisiologia normal desta fase folicular; porém, sem diferenças nos valores médios obtidos nos diferentes protocolos empregados no presente estudo.

Uma alternativa para o aumento da taxa de crescimento folicular desde a indução da luteólise até a ovulação é o uso de eCG em vacas de corte, especialmente aquelas com baixo escore de condição corporal (BÓ et al., 2007; SALES et al., 2011). Assim, o protocolo 7, com a aplicação do eCG 24 horas após a aplicação do benzoato de estradiol como indutor de ovulação, mostrou se eficiente, considerando que os animais deste grupo foram avaliados com o menor escore de condição corporal ($2,8\pm 0,6$; $P<0,05$). Adicionalmente, neste protocolo foram observados valores absolutos maiores na taxa de crescimento folicular

($1,8 \pm 1,2$ mm/dia; $P < 0,05$).

No presente estudo, não foi observado efeito do protocolo sobre a qualidade folicular, nem sobre a taxa de prenhez dos animais ($P > 0,05$). Todos os protocolos mostraram comportamentos semelhantes, e boa resposta aos hormônios utilizados; porém, no dia da aspiração do folículo de maior tamanho, os animais do protocolo 8 se mostraram mais responsivos aos hormônios empregados nos protocolos de sincronização. Assim, foi verificado aumento na biometria uterina até o dia da OPU e boa taxa de crescimento folicular com diâmetros valores absolutos maiores para o folículo de maior tamanho ou dominante nos ovários esquerdo e direito ($12,6 \pm 2,7$ e $12,7 \pm 2,1$ mm, respectivamente; $P > 0,05$), o que aumentaria a chance de ovulação.

CONCLUSÕES

No ciclo estral bovino, durante a fase folicular e sob o efeito do estrógeno, são obtidas imagens ultrassonográficas hipo-ecogênicas da camada endometrial com aumento da espessura da mesma;

Na mesma fase, são verificadas em algumas ocasiões, imagens anecogênicas do lume uterino;

Na fase luteal e sob a influência da progesterona, são obtidas imagens ultrassonográficas da camada endometrial hiper-ecogênica e diminuição na espessura da mesma;

Os diâmetros dos cornos uterinos de novilhas nulíparas e vacas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo, mostraram-se próximos aos valores de referência (≥ 20 mm) preconizados por Mihura e Casaro (1999) para fêmeas maduras sexualmente, aptas à reprodução;

Os protocolos à base de progesterona são eficazes em induzir a puberdade e gerar boas taxas de prenhez no estro subsequente de novilhas nulíparas pré-púberes e vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo, em estação de monta de três meses.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L.G.; BALDI, F. Seleção para Precocidade Sexual de Zebuínos: Situação Atual e Perspectivas. **VII simpósio de produção de gado de corte**. Viçosa MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV, 2010. P. 301.

ALMEIDA, O.M.; PINHO, R.O.; LIMA, D.M.A.; MARTINS, L.F. Endocrinologia da puberdade em fêmeas bovinas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Ano XI, n. 20, p. 1-13, 2013.

ANDERSON, K.J.; LEFEVER, D.G.; BRINKS, J.S.; ADDE, K.G. The use of reproductive tract score in beef heifers. **Agri-practice**, v. 12, n. 4, p. 19-26, 1991.

BARCELLOS, J.O.J. **Puberdade em novilhas Bradford: desenvolvimento corporal e relações endócrinas**. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

BARUSELLI, P.S.; SALES, J.N.S.; SALA, R.R.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 139-152, 2012.

BLONDIN, P.; SIRARD, M.A. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. **Molecular Reproduction and Development**, v. 41, p. 575-582, 1995.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; PERES, L.C.; PINCINATO, D.; MARAÑA, D.; BARUSELLI, P.S. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Sociedad Reproduction Fertility Supplement**, v. 64, p. 223-236, 2007.

CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-175, 2008.

CORDENONSI B.L.; MATARIM D.L.; BARROS M.G.; MIZIARA M.N.; LOPES P.A.; FRANCO T. **Genética bovina brasileira: Mercado internacional das competências e tecnologias mineiras**. Uberaba, Brasil, 2012.

DHALIWAL, G.S.; MURRAY, R.D.; REES, E.M.; HOWARD, C.V.; BEECH, D.J. Quantitative unbiased estimates of endometrial gland surface area and volume in cycling cows and heifers. **Research in Veterinary Science**, v. 73, p. 259-265, 2002.

DIAS, C.C.; WECHSLER, F.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F_{2α} treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 378-385, 2009.

DIAS, F. M. G. N. **Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas.** (Mestrado) Programa de pós-graduação, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1991.

EIMERICK, L. L.; DIAS, J. C.; GONÇALVES, P. E. M.; MARTINS, J. A. M.; LEITE, T. G.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R. Aspectos relevantes sobre a puberdade em fêmeas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n. 1, p. 11-19, 2009.

FERRAZ, J ELER, J . Seleção de *Bos indicus* para precocidade sexual. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**. v. 31, p. 167 – 171, 2007.

GRUNERT, E. e GREGORY, R.M. **Diagnóstico e Terapêutica da Infertilidade na Vaca.** 2 ed. Porto Alegre: Sulina, 1989. 163p.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal.** 7.ed. São Paulo, 2004, p.60.

HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P.; MOSS, G.E.; HENDRIX, K.S. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. **Journal Animal Science**, v. 68, p. 1428-1437, 1990.

JEFFERY, H.B. e BERG, R.T. An evaluation of several measurements of beef cow size as related to progeny performance. **Canadian Journal Animal Science**, v. 52, p. 23-27, 1972.

KINDER, J. E.; BERGFELD, E. G. M.; WEHRMAN, M. E., PETERS, K. E.; KOJIMA, F.N. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. **Journal Reproductive Fertility**, n. 49, p. 393-407, 1995.

LISBOA, A.; FERRAZ, P.A.; RODRIGUES, A.S.; BITTENCOURT, T.C.; LOIOLA, M.V.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelore. **Ciencia Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 501-507, 2013.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M; BARBOSA, R. T.; MADUREIRA, E.H; ALENCAR, M. M.; BINELLI, M. Taxas de serviço, concepção e prenhez de vacas nelore tratadas com gonadotrofina coriônica humana e 17B-estradiol após a inseminação artificial em tempo fixo. **Brazilia Journal Veterinary Research Animal Science**., v. 45, n. 3, p. 221- 230, 2008.

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

MIHURA, H.; CASARO, G. Selección de vaquillonas de reposición en rodeos de cría. **Revista Taurus**. v. 1, n. 4, p. 34-39, 1999.

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

PFEIFER, L.F.M.; CASTILHO, E.M.; ROLL, V.F.B.; SCHNEIDER, A.; ZIGUER, E.A.; DIONELLO, N.J.L. Efeito da duração do tratamento com progestágeno e da maturidade sexual na taxa de prenhez em novilhas de corte: avaliação econômica e biológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1205-1210, 2009.

PRIEDKLN, J.; LEISER, R.; DELLMANN, H.D.; EURELL, J. Female Reproductive System. **Textbook of Veterinary Histology**. 5 ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998. p. 247-286.

RASBY, R.J.; DAY, M.L.; JOHNSON, S.K. et al. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, p. 55-63, 1998.

REEVES, J.J.; RANTANEN, N.W.; HAUSERB, M. Transrectal real-time ultrasound scanning of the cow reproductive tract. **Theriogenology**, v. 21, n. 93, p. 485-494, 1984.

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

SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; MEDALHA, A.G.; BARUSELLI, P.S. Biotecnologia da reprodução em bovinos. In: **Simpósio Internacional De Reprodução Animal Aplicada**, 3. Londrina, p. 54-67, 2008.

SALES J.N.S.; CREPALDI G.A.; GIROTTO R.W.; SOUZA A.H.; BARUSELLI P.S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, v. 124, p. 12-18, 2011.

SEMMELMANN, C.E.N.; LOBATO, J.F.P.; DA ROCHA, M.G. Efeito de Sistemas de Alimentação no Ganho de Peso e Desempenho Reprodutivo de Novilhas Nelore Acasaladas aos 17/18 Meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 3, p. 835-843, 2001.

SENGER, P.L. **Pathways to pregnancy and parturition**. 2.ed. Washington: Current Conceptions, 2003, p. 60.

SHIOTSUKI, L.; SILVA, J.A. II V.; ALBUQUERQUE, L.G. Associação genética da prenhez aos 16 meses com o peso a desmama e o ganho de peso em animais da raça Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p.1211-1217, 2009.

SILVA, J.A. II V.; DIAS, L.T.; ALBUQUERQUE, L.G. Estudo genético da precocidade sexual de novilhas em um rebanho Nelore. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 5, p. 1568- 1572, 2005.

SOUZA, E.M., MILAGRES, J.C.; SILVA, M.A.; REGAZZI, A.J.; CASTRO, A.G.C. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista Sociedade Brasileira Zootecnia**, v. 24, p. 926-935, 1995.

STRINGFELLOW, D.A.; GIVENS, D. Manual of the international embryo transfer society. 4th ed. Campaing, IL: IETS; 2010.

TRIMBERG, W.; DAVIS, H.P. **Conception rate in dairy cattle by artificial insemination at various stages of estrus**. Nebraska: Research Bull University of Nebraska, 1943, p. 14.

VALLE, E.R.; ANDREOTTI, R.; THIAGO, L.R.L. Estratégias para aumento da eficiência reprodutiva e produtiva em bovinos de corte. Campo Grande: **EMBRAPA-CNPGC**, p. 80, 1998.

WILTBANK, J.N.; KASSON, C.W.; INGALLS, J.E. Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. **Journal of Animal Science**, v. 29, p. 602-605, 1969.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A obtenção e correta interpretação de imagens transversais da primeira região do útero (início da bifurcação uterina até a curvatura maior) por meio da ultrassonografia transretal bovina, mostra-se uma metodologia com alta acurácia e eficiente para avaliar a biometria uterina (espessura e diâmetro dos cornos uterinos); sendo que:

A ultrassonografia transretal bovina permite identificar em imagens de cortes transversais do útero a camada muscular, vascular, endometrial e o lume uterino.

A região 1 apresenta valores semelhantes às demais regiões do útero para a biometria uterina (espessura e diâmetro dos cornos uterinos).

Em novilhas da raça Holandesa, entre 9 a 20 meses de idade, criadas em condições tropicais em manejo de *Tie-Stall*:

O desenvolvimento ponderal e o sexual ocorrem de forma assincrônica, sendo o ponderal mais rápido nos animais jovens (9 -11 meses).

A puberdade de animais de fêmeas raça Holandesa nas condições tropicais se manifesta entre as faixas etárias de 12 a 15 meses de idade causando conseqüentemente atraso na maturidade sexual;

Uma vez atingida a puberdade o desenvolvimento ponderal e sexual é sincrônico, com maximização do aumento da espessura endometrial e diâmetro dos cornos uterinos. No ciclo estral bovino, durante a fase folicular e sob o efeito do estrógeno, são obtidas imagens ultrassonográficas hipo-ecogênicas da camada endometrial com aumento da espessura da mesma;

Na mesma fase, são verificadas em algumas ocasiões, imagens anecogênicas do lume uterino;

Na fase luteal e sob a influência da progesterona, são obtidas imagens ultrassonográficas da camada endometrial hiper-ecogênica e diminuição na espessura da mesma;

Os diâmetros dos cornos uterinos de novilhas nulíparas e vacas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo, mostraram-se próximos aos valores

de referência (≥ 20 mm) preconizados por Mihura e Casaro (1999) para fêmeas maduras sexualmente, aptas à reprodução;

Os protocolos à base de progesterona são eficazes em induzir a puberdade e gerar boas taxas de prenhez no estro subsequente de novilhas nulíparas pré-púberes e vacas adultas solteiras da raça Nelore, criadas em regime extensivo, em estação de monta de três meses.