

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

**EFEITO DA PROGESTERONA E DA PROSTAGLANDINA EM VACAS
NELORE (*Bos indicus*) SUBMETIDAS À IATF**

Cícero Soares dos Santos

SÃO LUÍS – MA
2012

CÍCERO SOARES DOS SANTOS

**EFEITO DA PROGESTERONA E DA PROSTAGLANDINA EM VACAS
NELORE (*Bos indicus*) SUBMETIDAS À IATF**

Dissertação apresentada ao programa
de Mestrado em Ciência Animal da
Universidade Estadual do Maranhão
como requisito à obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal

Área de Concentração: Conservação e Reprodução Animal

Orientador: Prof.Dr. José Ribamar de Souza Torres Júnior

SÃO LUÍS - MA
2012

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde
que citada a fonte

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

Biblioteca da Universidade Estadual do Maranhão

Santos, Cícero Soares dos.

Efeito da progesterona e da prostaglandina em vacas nelore
(*Bos indicus*) submetidas à IATF / Cícero Soares dos Santos -
São Luís, 2012.

101 f

Dissertação (Mestrado) – Curso de Mestrado em Ciência
Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2012.

Orientador: Prof. Dr. José Ribamar de Souza Torres Júnior

1.Bovinos. 2.PGF. 3.Lutéolise. 4.Sincronização. I.Título

636.2.082.4

CDU:




UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO

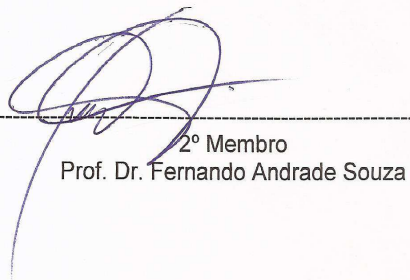
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA
COMISSÃO DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEAA)**

Os procedimentos realizados nos animais foram aprovados pela Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Estadual do Maranhão (Protocolo Nº 009/2010).

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 05/06/2012 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:



1º Membro
Prof. Dr. Daniel de Jesus Cardoso de Oliveira



2º Membro
Prof. Dr. Fernando Andrade Souza



Orientador
Prof. Dr. José Ribamar de Souza Torres Júnior

Dedico este trabalho aos meus pais (Cícero e Maria), grandes exemplos da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar presente em todos os momentos da minha vida e ter sempre me guiado pelo caminho do bem;

Aos meus pais, Cícero Soares dos Santos e Maria do Amparo Soares dos Santos por todo amor, e carinho na minha vida;

À minha família Soares, por me ter dado a honra de lhe pertencer;

A minha namorada, Aline Saldanha, por todo apoio, compreensão, amor e carinho na minha vida e por ter sempre colaborado no desenvolvimento desse trabalho;

Ao meu orientador e amigo, Prof. José Ribamar de Souza Torres Júnior, pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos na área das Ciências Agrárias, pelas boas conversas profissionais, pelas brincadeiras e boas risadas e principalmente pelo auxílio na realização desse trabalho;

Aos proprietários das Fazendas OMX Agropecuária e Mercantil Duas Irmãs pelo os animais cedidos para os experimentos;

Toda a equipe da OMX Agropecuária, em especial, Pedro Leão, sempre disposto a colaborar na logística dos experimentos;

Toda a equipe da Mercantil Duas Irmãs, em especial, Márcio Cleyton (Bilú) sempre disposto a colaborar na logística dos experimentos;

A empresa Pfizer, pela colaboração dos fármacos utilizados nos experimentos;

A empresa Kylumax Eletromedicina LTDA, pela disponibilidade do ultra-som;

A FAPEMA pelo suporte financeiro (bolsa de mestrado);

Aos amigos do curso de zootecnia da UFMA/Chapadinha (Hans, Osias e Itamara);

A turma do mestrado/2010, em especial aos meus amigos-irmãos (Madson e Herlon);

Aos amigos Sônia e Eduardo, por toda colaboração nos experimentos e apoio em Chapadinha/MA;

Ao amigo Danilo pela amizade e apoio desde a graduação;

Ao senhor José Carlos, e sua esposa, a senhora Deuzanira, por ter me acolhido na cidade de Chapadinha/MA;

Ao professor Porfírio Candanedo Guerra pela confiança, amizade e boas conversas profissionais;

A coordenadora do mestrado, Prof^a. Ana Lúcia Abreu Silva, pelos ensinamentos desde o 1º primeiro da graduação;

Todo corpo docente do curso de Medicina Veterinária e do Curso de Mestrado em Ciência Animal, da Universidade Estadual do Maranhão/UEMA por mais esse passo profissional tão importante na minha vida;

Aos meus velhos e bons amigos da graduação, Valdimiro Braz, Werbeth Oliveira, Marcelo Hortegal e Marcos Rogério;

A Universidade Federal do Piauí em especial aos professores José Adalmir e Amilton Raposo e aos colegas Vicente Fernandes e Flávio;

Ao grupo de reprodução Animal (GPBIO) em especial ao professor Ricardo de Macêdo Chaves por estar sempre disposto a colaborar;

A todos que direto ou indiretamente participaram da realização desse trabalho.

Muito Obrigado!!!

SANTOS, C. S. **Efeito da progesterona e da prostaglandina em vacas nelore (*Bos indicus*) submetidas à IATF**. 2012. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís – MA, 2012.

RESUMO

O presente estudo foi dividido em três experimentos: 1 (efeito da progesterona na taxa de concepção), 2 (efeito da luteólise precoce na dinâmica folicular) e 3 (efeito da luteólise precoce na taxa de concepção). No experimento 1 utilizaram-se 1006 vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) subdivididas em quatro tratamentos de acordo com a categoria (lactantes vs. não lactantes cíclicas) e com o número de usos do dispositivo (novo vs. previamente utilizado 8 dias), em arranjo fatorial 2x2. Na ocasião da inserção (D0) do dispositivo de P₄, todas as animais receberam 2mg de benzoato de estradiol. No dia oito (D8) todas as fêmeas foram tratadas com 25mg de PGF_{2α}, 1mg de cipionato de estradiol e 300UI de eCG. As taxas de concepção foram 152/294 (51,7%)^a para lactantes/novo, 189/363 (52,1%)^a para lactante/usado, 51/151 (33,8%)^b para não lactante/novo e 91/198 (46,0%)^a para não lactante/usado (P=0,0007). No experimento 2 (n=44) avaliou-se o efeito da antecipação da PGF_{2α}/luteólise no protocolo de IATF sobre a dinâmica folicular de vacas Nelore cíclicas não lactantes. Com base no momento da administração de PGF_{2α} formou-se 3 tratamentos (D0/8, D6 e D8). Assim, no tratamento D0/8, as vacas foram tratadas com 25mg de PGF_{2α} na inserção e na remoção do dispositivo intravaginal de P₄, no tratamento D6, a PGF_{2α} foi administrada 48h antes da remoção do dispositivo, enquanto que no D8, a PGF_{2α} foi administrada na remoção do dispositivo. Na ocasião da remoção dos dispositivos (D8) todas as vacas foram tratadas com 300UI de eCG e 1mg de cipionato de estradiol. Da inserção à remoção do dispositivo a dinâmica folicular foi monitorada por ultrassonografia a cada 24h. Do D9 até 96h após a remoção do dispositivo em intervalos de 12h. As amostras sanguíneas foram coletadas no D0, D3, D6, D7, D8, D9, D10 e D22 para avaliar as concentrações plasmáticas de P₄ em cada tratamento hormonal. Houve superioridade significativa do tratamento D0/8 quando comparado ao D6 e D8 em relação à taxa de crescimento do FD da inserção à remoção do dispositivo (1,1±0,1^a vs. 0,9±0,1^b vs. 0,8±0,1^b mm/dia, respectivamente), diâmetro do FS (4,9±0,3^a vs. 4,0±0,2^b vs. 4,1±0,2^bmm), diâmetro do FD (6,6±0,2^a vs. 5,7±0,1^b vs. 5,9±0,2^bmm). O diâmetro máximo do FD e da taxa de ovulação (TxOV) foram menores no tratamento D8 (8,1±0,7mm e 35,5±13,3%) quando comparado aos tratamentos D0/8 e D6 que não apresentaram diferença significativa entre si (9,9±0,3 vs. 9,7±0,4mm e 93,3±6,7 vs. 80,0±10,7%, respectivamente). Em resumo, a antecipação da luteólise permitiu o maior desenvolvimento folicular devido à menor concentração de P₄ circulante durante o protocolo. No experimento 3 (n=342), adotou-se a mesma metodologia usada no experimento 2. Foi realizada US em 20% das fêmeas, as quais apresentaram taxa de ciclicidade de 99% (99/100), tendo sido consideradas uma amostra de fêmeas cíclicas. Não houve diferença

significativa entre as taxas de concepção de vacas submetidas aos tratamentos D0/8, D6 ou D8 (59,3% vs. 63,4% vs. 60,6%, respectivamente; $P>0,05$). Assim, conclui-se que a diminuição dos níveis sanguíneos de progesterona exógena/endógena durante o protocolo de sincronização potencializa o crescimento folicular e a ovulação, pode tornar-se alternativa para otimizar os resultados de IATF.

Palavras - chaves: Bovinos, PGF, luteólise, sincronização.

SANTOS, C. S. **Effect of progesterone and prostaglandin on FTAI programs at Nelore (*Bos indicus*) cows.** 2012. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís – MA, 2012.

ABSTRACT

The present study was performed in three experiments: 1 (effect of progesterone on conception rate), 2 (effect of early luteolysis on follicular dynamics) and 3 (effect of early luteolysis on conception rate). In experiment 1 were used in 1006 Nelore cows (*Bos indicus*) distributed into four treatments according to category (lactating x nonlactating cyclic) and the device number of uses (new x previously used for 8 days) in a 2x2 factorial design. At the insertion of the P₄ device (D0), all animals received 2mg of oestradiol benzoate (EB). In eight days (D8) all cows were treated with 25 mg of PGF_{2α} plus 1 mg of estradiol cypionate (EC) and 300UI eCG. Conception rates were 152/294 (51.7%) for lactating/new; 189/363 (52.1%) for nursing/used; 51/151 (33.8%) for nonlactating/new and 91/198 (46.0%) for nonlactating/used (P = 0.0007). In experiment 2 (n=44) was evaluated the effect of early PGF_{2α}/ luteolysis at progesterone-based protocol on follicular dynamics and P4 perfil in cycling nonlactating Nelore cows. Three treatments were performed: PGF D0/8, D6 and D8). Thus, in D0/8 treatment cows were treated with 25mg of PGF at device insertion and withdrawal; PGF D6, PGF administered at 48h before device withdrawal; and D8, PGF administered only at device withdrawal. At device withdrawal (D8) all cows were treated with 300UI of eCG and 1mg of EC. To device insertion from withdrawal, follicular dynamics was monitored by ultrasonography every 24 hours. To D9 from 96 hours after device withdrawal the ultrasound exam was performed at 12h intervals. To evaluate P4 profile, blood samples were collected on D0, D3, D6, D7, D8, D9, D10 and D22. The D0/8 treatment was significantly better than D6 and D8 for the DF daily growth rate to device insertion from withdrawal (1.1±0.1 vs 0.9±0.1 vs 0.8±0.1mm/day, respectively), SF diameter (4.9±0.3 vs 4.0±0.2 vs 4.1±0.2mm), DF diameter (6.6±0.2 vs 5.7±0.1 vs 5.9±0.2mm). The maximum diameter of DF and the ovulation rate (TxOV) were lower in D8 treatment (8.1±0.7mm and 35.5±13.3%) when compared to D0/8 and D6 treatments which showed no differences between them (9.9±0.3 vs 9.7±0.4mm and 93.3±6.7 vs 80.0±10.7%, respectively). In summary, the early luteolysis induced the more expressive development of dominant follicle due to lower circulating P4 during the protocol. In experiment 3 (n=342), was performed the same experimental design of experiment 2 to evaluate the conception rates to timed artificial insemination (TAI). Ultrasound examination was performed in 20% of females and in 99% (99/100) was found corpus luteum (cyclic females). The conception rate of D0/8, D6 and D8 treatments was similar (59.3% vs 63.4% vs 60.6%, respectively, P> 0.05). Thus, we conclude that the decrease in blood levels of exogenous/endogenous progesterone during the synchronization protocol enhances follicular growth and ovulation, and may be an alternative to optimize TAI programs.

Key words: Cattle, PGF, luteolysis, synchronization.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 18 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 20 |
| 2.1 Fisiologia reprodutiva | 20 |
| 2.2 Fases do ciclo estral | 21 |
| 2.3 Foliculogênese | 23 |
| 2.4 Ondas foliculares | 27 |
| 2.5 Efeitos da progesterona no ciclo estral e no crescimento folicular | 29 |
| 2.6 Sincronizações com progesterona e/ou progestágenos associado ao estradiol | 32 |
| 2.7 Prostaglandinas (PGF ₂ α) | 34 |
| 2.8 Estrógenos e ésteres de estradiol | 37 |
| 2.9 Uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) | 40 |
| 3 OBJETIVOS | 42 |
| 3.1 Geral | 42 |
| 3.2 Específicos | 42 |
| 4 JUSTIFICATIVA..... | 43 |
| 5 EXPERIMENTO 1 – Efeito do dispositivo intravaginal de progesterona novo ou previamente utilizado na taxa de concepção de vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) lactantes e não lactantes submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) | 44 |
| 5.1 HIPÓTESE | 44 |
| 5.2 MATERIAL E MÉTODOS | 44 |
| 5.2.1 Local e animais experimentais | 44 |
| 5.2.2 Avaliação do Escore de Condição Corporal (ECC) | 45 |

| | |
|---|----|
| 5.2.3 Delineamento experimental | 45 |
| 5.2.4 Análise estatística | 46 |
| 5.3 RESULTADOS..... | 47 |
| 5.4 DISCUSSÃO | 47 |
| 5.5 CONCLUSÃO | 51 |
| 6 EXPERIMENTO 2 – Efeito da luteólise precoce na dinâmica folicular em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes | 52 |
| 6.1 HIPÓTESE | 52 |
| 6.2 MATERIAL E MÉTODOS | 52 |
| 6.2.1 Local e animais experimentais | 52 |
| 6.2.2 Delineamento experimental | 53 |
| 6.2.3 Avaliação ultra-sonográfica transretal e dinâmica folicular | 55 |
| 6.2.4 Dosagem hormonal | 56 |
| 6.2.5 Análises estatísticas | 57 |
| 6.3 RESULTADOS | 58 |
| 6.4 DISCUSSÃO | 65 |
| 6.5 CONCLUSÃO | 70 |
| 7 EXPERIMENTO 3 – Efeito da prostaglandina (PGF _{2α}) na taxa de concepção em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) | 71 |
| 7.1 HIPÓTESE | 71 |
| 7.2 MATERIAL E MÉTODOS | 71 |
| 7.2.1 Local e animais experimentais | 71 |
| 7.2.2 Delineamento experimental | 71 |
| 7.2.3 Avaliação do <i>status</i> Ovariano | 72 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| 7.2.4 Análises estatísticas | 72 |
| 7.3 RESULTADOS | 72 |
| 7.4 DISCUSSÃO | 73 |
| 7.5 CONCLUSÃO | 77 |
| 8 SUMÁRIO DE RESULTADOS | 78 |
| 9 CONCLUSÃO | 79 |
| REFERÊNCIAS | 80 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| TABELA 1. Efeito do dispositivo intravaginal de progesterona (1g de P ₄) novo ou previamente utilizado na taxa de concepção em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) lactantes e não lactantes. Parnarama - MA, 2010..... | 47 |
| TABELA 2. Escore de condição ovariana | 53 |
| TABELA 3. Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, dia da divergência, taxa de atresia geral, taxa de crescimento geral do folículo subordinado e dominante, taxa de crescimento do folículo dominante da inserção a remoção do dispositivo e taxa de crescimento do folículo dominante do D8 a ovulação em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes tratadas com dispositivo intravaginal contendo P ₄ associada à administração de PGF _{2α} no D0. Santa Inês – MA, 2011..... | 59 |
| TABELA 4. Diâmetro do folículo subordinado e dominante na divergência folicular, diâmetro do folículo dominante na remoção do dispositivo (D8), diâmetro máximo do folículo dominante e ovulatório, momento da ovulação e taxa de ovulação em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclica não lactantes tratadas com dispositivo intravaginal contendo P ₄ associada à administração de PGF _{2α} no D0. Santa Inês – MA, 2011..... | 61 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1. Município de Parnarama – MA | 44 |
| FIGURA 2. Protocolo base de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo | 46 |
| FIGURA 3. Município de Santa Inês – MA | 52 |
| FIGURA 4. PGF _{2α} administrada no D0 e no D8 do tratamento hormonal | 55 |
| FIGURA 5. PGF _{2α} administrada no D6 do tratamento hormonal | 55 |
| FIGURA 6. PGF _{2α} administrada no D8 do tratamento hormonal | 55 |
| FIGURA 7. Coletas de sangue realizadas durante do tratamento hormonal.. | 56 |
| FIGURA 8. Distribuição das ovulações em horas após a remoção dos dispositivos intravaginais de progesterona em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes. Santa Inês – MA, 2011 | 62 |
| FIGURA 9. Distribuição das ovulações em porcentagem (%) após a remoção dos dispositivos intravaginais de progesterona em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes. Santa Inês – MA, 2011 | 63 |
| FIGURA 10. Concentração sérica de progesterona durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona associada à prostaglandina em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes. Santa Inês – MA, 2011 | 64 |
| FIGURA 11. Dinâmica folicular de vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) tratadas com dispositivo intravaginal de P4 associada à prostaglandina. Santa Inês – MA, 2011 | 65 |
| FIGURA 12. Efeito da prostaglandina na taxa de concepção em vacas Nelore (<i>Bos indicus</i>) cíclicas não lactantes submetidas à IATF, Parnarama – MA, 2011 | 73 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BE: Benzoato de estradiol
CIRD[®]: dispositivo de liberação lenta de progesterona (1,9g de P₄)
CL: corpo lúteo
DIB[®]: dispositivo de liberação lenta de progesterona (1,0g de P₄)
∅: diâmetro
ECC: escore de condição corporal
eCG: gonadotrofina coriônica eqüina
ECO: escore de condição ovariana
ECP: cipionato de estradiol
FD: folículo dominante
FS: folículo subordinado
FSH: Hormônio folículo estimulante
GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas
g: unidade g
HHG: hipotálamo-hipofise-gônadas
IM: intramuscular
IATF: inseminação artificial em tempo fixo
LH: hormônio luteinizante
mg: miligrama(s)
mL: mililitro
mm: milímetro
ng: nanograma
P₄: progesterona
PGF_{2α}: prostaglandina
SNC: sistema nervoso central
US: ultra-som
UI: unidade internacional
μm: micromolar
μg: micrograma
TxC: taxa de concepção
TxOV: taxa de ovulação
Tx: taxa
vs: versus

1 INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro é composto por cerca de 209,5 milhões de animais (IBGE, 2010), no qual predomina a subespécie *Bos indicus* 80% (BARUSELLI et al., 2007). Esses animais estão, em sua maioria, localizados em áreas tropicais e subtropicais devido a sua adaptação às altas temperaturas, umidade e condições de manejo. Contudo, as fêmeas mantidas em regiões tropicais apresentam alta incidência de anestro pós-parto, o que diminui a taxa de serviço e aumenta o intervalo parto concepção, afetando negativamente o desempenho reprodutivo. Sendo assim, uma das alternativas para melhorar a eficiência reprodutiva, associada ao melhoramento genético, sem a necessidade de detecção de estro é a sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Além disso, a IATF tem o potencial de encurtar a estação reprodutiva, produzir bezerros uniformes e simplificar o uso da inseminação artificial (IA).

Falhas na detecção de estro aumentam o número de dias improdutivos dos animais, o intervalo entre partos e diminuem o número de bezerros nascidos. Ao observarem esses efeitos, muitos fazendeiros interrompem seus programas de inseminação artificial. Dessa forma, programas de inseminação em tempo fixo colaboram para o aumento da eficiência e do emprego dessa técnica (BARUSELLI, 2004).

Para maximização do potencial reprodutivo, especialmente de fêmeas domésticas, é importante compreender os eventos fisiológicos associados ao crescimento folicular e à ovulação, otimizando as biotécnicas da reprodução e, conseqüentemente, a eficiência reprodutiva dos rebanhos (BALL & PETERS, 2006; BARUSELLI et al., 2007).

A sincronização do estro é uma ferramenta importante quando o objetivo é trabalhar com IATF, pois se torna mais preciso o momento da ovulação, ou seja, pela aplicação de fármacos os quais possam promover um mecanismo de feedback positivo para LH no momento final do crescimento folicular (MOREIRA, 2002).

Os tratamentos à base de progesterona (dispositivos intravaginais) ou progestágeno (implantes auriculares), além da sincronização de estro em fêmeas cíclicas, também têm a capacidade de indução da ciclicidade em fêmeas no pós-parto (BASTOS et al., 2003). A sincronização da ovulação para IATF, é a tecnologia implementada para aumentar a lucratividade de fazendas comerciais pelo aumento da taxa de serviço e, conseqüentemente, minimiza os problemas de observação de estro. Neste sentido, a prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) é um dos tratamentos mais comumente usados em fêmeas bovinas para a sincronização de estro (ODDE, 1990). Recentemente, com a implantação dos protocolos de IATF, aumentou-se a demanda para a utilização desta substância.

Associada aos tratamentos à base de progesterona/progestágeno é preconizada a aplicação de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) para indução da luteólise e queda dos níveis endógenos de progesterona (DIELEMAN et al., 1986) e conseqüente aumento dos pulsos pré-ovulatórios de LH (KARSCH et al., 1979). Dessa forma, o desenvolvimento de um protocolo de sincronização da ovulação de fácil aplicação que resulte em taxas de prenhez superiores a 50% é um fator importante para introduzir o uso dessa ferramenta em fazendas comerciais de vacas de corte (JOHNSON & JONES, 2005).

A presente pesquisa objetivou no primeiro momento avaliar o efeito da progesterona (P_4) na taxa de concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactante e não lactantes submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo. O segundo momento foi avaliar o efeito da prostaglandina na dinâmica folicular e na taxa de concepção em vacas Nelore cíclicas não lactantes. Dessa forma, temos o propósito de contemplar novas propostas para viabilizar a utilização de fármacos exógenos e otimizar a eficiência reprodutiva de rebanhos bovinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fisiologia reprodutiva

De acordo com Ereno (2003), o ciclo estral é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos envolvendo, principalmente os hormônios hipotalâmicos (hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH), hipofisários (hormônio luteinizante – LH e hormônio folículo estimulante – FSH) e gonadais (estradiol - E₂, progesterona – P₄ e inibina).

O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) é um decapeptídeo sintetizado por células neuroendócrinas na área pré-óptica do hipotálamo e após ser liberado sob a forma de pulsos (CLARKE, 1988) atinge a adenohipófise através do sistema porta-hipotalâmico-hipofisário, onde determina a secreção das gonadotrofinas FSH e LH. Essas gonadotrofinas são liberadas de maneira pulsátil na circulação sistêmica e atuam nas gônadas regulando a gametogênese e secreção dos estrógenos gonadais (STANISLAUS et al., 1998).

O FSH estimula o crescimento e a maturação do folículo ovariano. Este hormônio por si só não causa secreção de estrógenos no ovário, ao contrário, ele necessita da presença do LH para estimular a produção estrogênica (HAFEZ & HAFEZ, 2004). O FSH influencia a produção de estrogênio, fazendo com que as células da granulosa convertam andrógenos, produzidos pela teca interna sob influência do LH, em estrógenos (FORTUNE et al., 2004). O FSH induz receptores adicionais para o FSH, além de induzir a formação de receptores para o LH, enquanto o LH diminui o número de receptores para FSH na granulosa (SATBENFELD & EDQVIST, 1996).

O LH secretado pela adeno-hipófise, é regulado pela P₄ e E₂ ovarianos. Durante a maior parte do ciclo estral, ambos inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (GOODMAN & KARSCH, 1980; CLARKE, 1988; PRICE & WEBB, 1988). O LH é liberado sob a forma de pulsos que variam em frequência e amplitude (RAHE et al., 1980; WRIGHT & MALMO, 1992). Após a luteólise, a concentração

sérica de P₄ diminui a valores inferiores a 1 ng/mL, o que permite o aumento na frequência dos pulsos de LH (GOODMAN & KARSCH, 1980; KARSCH, 1987; WILTBANK et al, 2002).

O aumento na frequência de pulsos de LH estimula a maturação do folículo dominante que passa a secretar quantidades crescentes de 17β-estradiol (IRELAND & ROCHE, 1987; FORTUNE et al., 2001). O estradiol, na ausência de P₄, estimula a síntese de receptores para GnRH na hipófise (SCHOENEMANN et al., 1985) tornando-a mais sensível ao GnRH (KESNER et al., 1982) ao mesmo tempo que aumenta a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH (HANSEL & CONVEY, 1983) e estimula a síntese de gonadotrofinas, o que resulta no pico pré-ovulatório de LH (HURNIK, 1987) e conseqüentemente, na ovulação do folículo pré-ovulatório (CLARKE, 1988; MUKASA-MUGERWA, 1989; CASSAR et al., 2002).

A ovulação é o evento que marca o fim da fase folicular e o início da fase luteal (HAFEZ & HAFEZ, 2000; SENGER, 2003). Na fêmea bovina esse evento ocorre 28 (24 a 30) horas após o pico de LH e de 24 a 32 horas após o início do estro (HAFEZ et al., 2000; SENGER, 2003) é um processo necessário para que se forme o corpo lúteo - CL (HAFEZ et al., 2000). O pico pré-ovulatório de LH é importante porque marca uma série de eventos bioquímicos que levam a ovulação. A ovulação envolve a destruição proposital do tecido folicular e ocorre devido a elevado fluxo sanguíneo, colapso de tecido conectivo e contrações ovarianas (SMITH et al., 1994; SENGER, 2003; ACOSTA & MIYAMOTO, 2004).

2.2 Fases do ciclo estral

O ciclo estral da fêmea bovina é controlado por uma complexa interação neuroendócrina, coordenada pelo eixo hipotálamo – hipófise – ovário – útero e por mecanismos intra-ováricos que estabelecem uma dinâmica folicular a qual permite o desenvolvimento de um folículo maduro capaz de ovular em momento propício e produzir assim, uma célula capaz de ser fecundada (CALLEJAS, 2001).

O ciclo estral em bovinos apresenta duração média de 21 dias (17 a 25 dias) (SIROIS & FORTUNE, 1988) é regido por interações e antagonismos endocrinológicos de hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, gônadas e útero (MACMILLAN & BURKE, 1996). O ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas: a fase folicular ou estrogênica, que se estende do proestro ao estro culminando na ovulação, e a fase luteínica ou progesterônica, que compreende o metaestro e o diestro terminando na luteólise (MACMILLAN & BURKE, 1996).

O período de proestro, com duração de dois a três dias, é caracterizado pela baixa concentração de P_4 , pelo desenvolvimento folicular e pelo aumento dos níveis de estradiol no sangue. Nesta fase, a liberação do GnRH pelo hipotálamo estimula a secreção do FSH e do LH pela hipófise. Os elevados níveis de FSH no sangue induzem o desenvolvimento dos folículos, em sinergismo com o LH, estimulam a sua maturação. À medida que o folículo se desenvolve, aumenta a produção de estradiol, e após uma determinada concentração, o estradiol estimula a manifestação do estro e a liberação massiva do LH (VALE, 1991).

Durante o estro, as fêmeas bovinas apresentam alterações comportamentais caracterizadas por imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, mugidos frequentes, intensa movimentação, aumento na frequência de micção, entre outras características. Por um longo período estes sinais foram e ainda são empregados para a detecção convencional do estro. Contudo, as características do estro são influenciadas por uma série de fatores, entre os principais: a idade (DE SILVA et al., 1981), a produção de leite (VAN VLIET & VAN EERDENBURG, 1996), as condições ambientais (WHITE et al., 2002) e os fatores sociais, como a hierarquia (LANDAETA – HERNADES, et al., 2004). Adicionalmente, existem diferenças observadas entre raças (RAE et al., 1999), e embora ainda não completamente elucidadas, entre grupos genéticos (zebuínos e taurinos).

A fase luteínica corresponde ao metaestro e diestro. O metaestro, com duração de dois a três dias, tem como característica principal a ovulação. Em bovinos, a ovulação ocorre geralmente de 12 a 16 horas após o término do

estro. Após a ruptura do folículo, o óvulo é transportado para o local de fertilização, porção média do oviduto, e as células da parede interna do folículo se multiplicam dando origem a uma nova estrutura, denominada corpo lúteo ou corpo amarelo (VALE, 1991).

Segundo Moraes et al. (2001) o corpo lúteo (CL) começa a se organizar logo após a ovulação, mas nos ruminantes inicia seu funcionamento após um ou dois dias, com função plena após cinco dias. Porém, Sartori et al. (2004) demonstraram que tanto o tamanho do CL quanto a secreção de progesterona continuam aumentando até pelo menos o 14^o dia do ciclo estral.

2.3 Foliculogênese

Aos processos de formação, crescimento e maturação folicular dá-se o nome de foliculogênese, que tem início com a formação do folículo primordial, culminando com a formação do folículo pré-ovulatório (VAN DEN HURK & ZHAO, 2005). A foliculogênese bovina é um processo contínuo de crescimento e atresia dos folículos ovarianos que se inicia na vida fetal, passa pela puberdade e continua na vida reprodutiva até a senilidade (NILSSON et al., 2001). Segundo o estágio de desenvolvimento, os folículos podem ser divididos em: a) folículos pré-antrais ou não cavitários, abrangendo os folículos primordiais, primários e secundários e b) folículos antrais ou cavitários, compreendendo os folículos terciários e os pré-ovulatórios (HULSHOF et al., 1994). A foliculogênese pode ser dividida em duas fases: 1) Fase pré-antral, subdividida em ativação dos folículos primordiais e crescimento dos folículos primários e secundários; 2) Fase antral, subdividida nas fases de crescimento inicial e terminal dos folículos terciários (FIGUEIREDO et al., 2008).

O crescimento de folículos antrais iniciais até o diâmetro aproximado de 4 mm em *Bos taurus* na ausência de FSH sustenta a hipótese de que o estágio pré-antral da foliculogênese é predominantemente regulado por fatores intra-ovarianos (GONG et al., 1996). Contudo, receptores de FSH (FSHr) foram detectados em folículos primários bovinos e aumento do crescimento folicular pré-antral foi observado após adição de FSH ao meio de cultura, sugerindo o

papel de coadjuvante para o FSH no controle do estágio pré-antral (XU et al., 1995; MCNATTY et al., 1999; GUTIERREZ et al., 2000; WEBB et al., 2003).

A transição de folículos primordiais para o grupo de folículos em desenvolvimento é um processo fundamental na fisiologia ovariana, uma vez que determina a fertilidade feminina. Morfologicamente, os folículos primordiais consistem de uma única camada de células achatadas da pré-granulosa envolvendo o oócito. Apesar de uma grande quantidade de folículos primordiais estar presente no ovário, a maioria deles, cerca de 99,9%, não chega até a ovulação, mas sofre um processo degenerativo e/ou apoptótico conhecido por atresia, fazendo com que o ovário seja um órgão de baixíssima produtividade. Em função desse elevado índice, a atresia folicular e os fatores que influenciam este processo têm sido extensivamente estudados, havendo comprovação de que muitos hormônios e fatores de crescimento estão envolvidos (REYNAUD & DRIANCOURT, 2000; MARKSTROM et al., 2002; NILSSON & SKINNER, 2003).

Durante o início do desenvolvimento de folículos primordiais, recentes estudos têm demonstrado que fatores de crescimento, como, por exemplo, o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1), o fator de crescimento epidermal (EGF), o fator de crescimento fibroblástico 2 (FGF-2), a proteína morfogenética óssea 4 (BMP-4) e o fator de crescimento e diferenciação 9 (GDF-9) são extremamente importantes para a manutenção da viabilidade destes folículos (REYNAUD & DRIANCOURT, 2000; MARKSTROM et al., 2002; NILSSON & SKINNER, 2003). Além disso, vários fatores de crescimento agem localmente no ovário na transição de folículo primordial para primário, entre eles o *kit ligand* (PARROTT & SKINNER, 1999), o fator de crescimento fibroblástico básico (BFGF) (NILSSON & SKINNER, 2001), o fator inibidor de leucemia (LIF) (NILSSON & SKINNER, 2002) e a proteína morfogenética do osso 15 (BMP-15) (OTSUKA et al., 2000). Os fatores locais que agem na transição de folículos primários para secundários são: GDF-9 em camundongo (DONG et al., 1996), BMP-15 em ovelha (GALLOWAY et al., 2000), FGFb em vaca (VERNON & SPICER, 1994), Fator de Crescimento

Transformante β (TGF- β) em camundongo (LIU et al., 1999) e EGF em vaca (WANDJI et al., 1996).

Somando-se ao exposto, diversos componentes locais já foram identificados como possíveis promotores do crescimento de folículos secundários, entre eles: a ativina-A em ratas (ZHAO et al., 2000) e ovelhas (THOMAS et al., 2003), Hormônio do Crescimento (GH) em ratas (LIU et al., 1998), TGF- β em camundongas (LIU et al., 1999), EGF e IGF-I em vacas (GUTIERREZ et al., 2000), FGFb em vacas (WANDJI et al., 1996), GDF-9 em camundongos (HAYASHI et al., 1999) e BMP-15 em ovelhas (JUENGEL et al., 2002). Também há as gonadotrofinas como FSH em vacas (GUTIERREZ et al., 2000) e LH em camundongos (WU et al., 2000).

Quando os folículos primordiais são ativados para o grupo de folículos em desenvolvimento, as células achatadas da pré-granulosa se tornam cubóides, caracterizando, assim, os folículos primários. A proliferação das células da granulosa dos folículos primários leva ao desenvolvimento de duas ou mais camadas dessas células ao redor do oócito, formando os folículos secundários. Quando duas a três camadas de células da granulosa são formadas, as células da teca podem ser visualizadas em torno da membrana basal em ovelhas (SCARAMUZZI et al., 1993), podendo também já ser identificada a zona pelúcida em bovinos (FIGUEIREDO et al., 1995).

Com o crescimento dos folículos secundários e a organização das células da granulosa em várias camadas, ocorre a formação de uma cavidade repleta de líquido folicular, entre as camadas de células da granulosa, denominada antro. O fluido folicular que preenche esta cavidade contém água, eletrólitos, proteínas séricas e alta concentração de hormônios esteróides secretados pelas células da granulosa (BARNETT et al., 2006). O desenvolvimento dos folículos antrais é caracterizado pelas fases de recrutamento, crescimento, seleção e dominância (VAN DEN HURK & ZHAO, 2005), sendo a formação de folículos pré-ovulatórios um pré-requisito para a ovulação e formação do corpo lúteo, bem como para a manutenção da fertilidade (DRUMMOND, 2006).

A fase antral do desenvolvimento folicular é dependente das gonadotrofinas, que induzem o recrutamento e o crescimento sincronizado de folículos antrais em ondas foliculares (FORTUNE et al., 2001). Em bovinos, os intervalos interovulatórios apresentam 2 ou 3 ondas foliculares, sendo que a ocorrência de 1 ou 4 ondas é rara (SIROIS & FORTUNE, 1988; FIGUEIREDO et al., 1997). Além das gonadotrofinas, peptídeos sintetizados localmente desempenham papel chave na regulação da fase antral, tanto por meio de mecanismos parácrinos como endócrinos (WEBB et al., 2003; FORTUNE et al., 2004).

O aumento das concentrações plasmáticas de FSH constitui o estímulo necessário para o recrutamento e emergência da onda folicular (ADAMS et al., 1992). Em espécies monovulatórias, apenas um folículo é selecionado dentre os recrutados para continuar a crescer e diferenciar-se em folículo ovulatório, enquanto os demais têm como destino à atresia. O folículo selecionado é conhecido como folículo dominante e suprime ativamente o crescimento dos subordinados pela secreção de estradiol e inibina (FORTUNE, 1994; GINTHER et al., 1996). O crescimento entre 4 e 8mm mostrou-se dependente do FSH e independente do LH, enquanto que folículos maiores que 9 mm só foram observados na presença de LH endógeno ou FSH exógeno (GONG et al., 1996). Portanto, os folículos são considerados dependentes de FSH até a ocorrência da dominância, após o que eles se tornam dependentes de LH (FORTUNE et al., 2001).

O recrutamento (folículos entre 2 e 4 mm) é um evento dependente de gonadotrofinas, durante o qual um grupo de folículos adquire habilidade para respondê-las e depende delas para o crescimento contínuo. Nessa fase de crescimento folicular, os receptores de FSH estão predominantemente localizados nas células da granulosa, enquanto os de LH nas células da teca. A seleção é um processo no qual apenas poucos folículos recrutados são selecionados. Nos bovinos, a seleção se define como o momento pelo qual um folículo estroginicamente ativo promove seu próprio crescimento e inibe o crescimento dos outros subordinados. Fatores inerentes ao tamanho, à concentração de E₂, P₄, IGF-I, IGFBP e inibina, no interior do folículo, podem

ser importantes para estabelecer qual será o folículo dominante. A seleção do folículo dominante pode ser um processo passivo no qual o primeiro folículo que adquirir receptores para LH em suas células da granulosa será o selecionado (FORTUNE, 1994).

No crescimento, o folículo adquire progressivamente certas características, cada uma das quais é pré-requisito essencial para o seu desenvolvimento. A falta de aquisição de qualquer propriedade no momento exato, na sequência exata, conduz à falha do processo e à sua degeneração, o qual leva à sua atresia. Na vaca, existe uma hierarquia marcada na população de folículos antrais com um número de 20 a 30 folículos de três a quatro milímetros de diâmetro, e são esses os que têm capacidade de responder às gonadotrofinas, mesmo não necessitando delas. Acredita-se que, nessa fase, os folículos dependem mais expressivamente de fatores autócrinos e parácrinos, como, a inibina, o fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) e suas proteínas de ligação (IGFBP). Outro grupo de folículos, aqueles maiores que 4 a 5 milímetros de diâmetro, depende das gonadotrofinas para seu desenvolvimento, no qual apenas um se tornará ovulatório (CAMPBELL et al., 1995).

2.4 Ondas foliculares

A teoria de ondas de desenvolvimento folicular ovariano de Rajakoski (1960) foi originalmente proposta com base na avaliação histológica dos ovários obtidos de vacas abatidas. Associando essa teoria a observações diretas dos folículos, Matton et al. (1981) concluíram que, durante o ciclo estral, ocorrem duas ondas de crescimento do folículo antral. Já Spicer & Echternkamp (1986) refutaram a ocorrência de ondas, e sustentaram a idéia de que o crescimento era contínuo e independente das fases do ciclo estral.

Com o advento da ultra-sonografia (PIERSON & GINTHER, 1984) que permitiu observações em série dos ovários, a teoria de ondas de desenvolvimento folicular foi confirmada. Os achados de Pierson & Ginther (1987), que utilizaram ultra-sonografia transretal para monitorar a população de

folículos de diferentes categorias de tamanho, confirmando a veracidade dessa teoria. Segundo Martins et al. (2005), a técnica de ultra-sonografia associada a dosagens hormonais permitiu melhor estudo e compreensão sobre a dinâmica folicular em bovinos. No entanto, ainda existem muitas variações nos dados obtidos pelo fato da função ovariana ser influenciada por diversos fatores, como clima, raça, nutrição e manejo.

O desenvolvimento folicular de bovinos ocorre em um padrão de ondas. Cada onda de crescimento folicular é dividida em 4 fases: emergência, seleção, dominância e atresia ou ovulação (DISKIN et al., 2002). A emergência de uma onda é estimulada por um aumento transitório nas concentrações plasmáticas de FSH (ADAMS et al., 1992). Após o pico de FSH e o declínio dos níveis circulantes desse hormônio, ocorre atresia dos folículos subordinados recrutados no início da nova onda de crescimento folicular (GINTHER et al., 1997). Animais com 3 ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral apresentam maior fertilidade que animais de 2 ondas. Essa diferença pode ser explicada pelo menor tempo de crescimento do folículo ovulatório em animais de 3 ondas de crescimento folicular, melhorando a qualidade do oócito e, conseqüentemente a taxa de concepção (TOWNSON et al., 2002).

Cada onda é caracterizada por um grupo de pequenos folículos que são recrutados (emergência folicular) e iniciam uma fase de crescimento comum por cerca de três dias (GINTHER et al., 2003). Destes, apenas um continua seu desenvolvimento (folículo dominante), enquanto os outros sofrem decréscimo de tamanho, folículos subordinados (LUCY et al., 1992), estabelecendo-se então, o fenômeno da divergência folicular. O folículo selecionado passa a exercer dominância sobre os demais folículos, suprimindo o crescimento dos mesmos e inibindo o recrutamento de um novo grupo de folículos, fase de dominância (HODGEN, 1982). A inibição do folículo dominante realiza-se de forma passiva pela redução da concentração do hormônio folículo estimulante (FSH) e de forma ativa, reduzindo o número de receptores ao hormônio nos folículos subordinados. Dessa forma, os hormônios estradiol e inibina, produzidos pelas células da granulosa do folículo dominante, reduzem a liberação de FSH a concentrações muito baixas,

insuficiente para manter o desenvolvimento dos folículos subordinados, porém suficientes para manter o crescimento do folículo dominante (ALVES et al., 2002).

Após a divergência, e na presença de altos níveis de progesterona – que promove redução da frequência na pulsatilidade de LH - o folículo dominante torna-se anovulatório. A partir desse momento começa o processo de atresia e perda da dominância, dando início a uma nova onda de crescimento folicular (GINTHER et al., 1989; WEBB et al., 1999). Contrariamente, o folículo dominante presente no momento da regressão luteínica culmina na ovulação (FORTUNE et al., 2004).

A divergência (ou desvio) folicular é definida pela diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, sendo marcada pela continuidade no desenvolvimento do maior folículo e declínio ou parada no crescimento dos outros (GINTHER et al., 2001). O folículo dominante é caracterizado pelo seu crescimento constante e pela capacidade de produzir estradiol (AUSTIN et al., 2002), menores concentrações de IGFBP's 2,4 e 5 e folistatina (MIHM & AUSTIN, 2002) e aumento nas concentrações intrafoliculares de IGF-I (GINTHER et al., 2001). Contrariamente, os folículos destinados à subordinação têm reduzida capacidade de produzir estradiol, elevadas concentrações de IGFBP's de baixo peso molecular 1 e 3 e bloqueio do crescimento (MIHM & AUSTIN, 2002).

2.5 Efeitos da progesterona no ciclo estral e no crescimento folicular

Durante a ovulação, o oócito e o fluido folicular são liberados do folículo, criando uma cavidade para o desenvolvimento do corpo lúteo. Após a ovulação, várias mudanças estruturais ocorrem: a membrana basal é rompida, a teca interna e as células da granulosa invadem a cavidade folicular, crescem (hipertrofia) e dividem-se (hiperplasia), novos vasos proliferam, e o fluxo sanguíneo aumenta conforme se desenvolve o corpo lúteo (DAMBER et al., 1987). As células da teca se transformam em células luteínicas pequenas, e as células da granulosa se transformam em células luteínicas grandes. Porém,

conforme o corpo lúteo se desenvolve, as células luteínicas pequenas podem se transformar em células luteínicas grandes (HANSEL et al., 1987).

O corpo lúteo maduro é composto por uma população de células heterogêneas. As principais células secretoras do corpo lúteo são as luteínicas esteroidogênicas grandes (25µm) e pequenas (10-20µm), mas o corpo lúteo contém também células endoteliais, fibroblastos, células de músculo liso e células do sistema imune (O'SHEA et al., 1989). O desenvolvimento do corpo lúteo não é controlado unicamente por hormônios endócrinos, como o hormônio luteinizante (LH) e o hormônio do crescimento (GH) (BERISHA et al., 2000); vias de sinalização parácrina entre os vários tipos celulares deste órgão complexo são fundamentais para promover o crescimento de novos vasos e o consequente aumento do fluxo sanguíneo (BERISHA et al., 2000), bem como para controlar a diferenciação, a proliferação e a função secretória das células luteínicas.

A formação do CL após a ovulação, a partir das células do folículo ovulatório, é um processo conhecido como luteinização, no qual essas células sofrem mudanças morfo-bioquímicas dando origem a um órgão transitório que produz progesterona (BINELLE, 2000; BÓ, 2000; MURPHY, 2000; DAVIS & RUEDA, 2003; SENGER, 2003). O nome *corpus luteum* foi dado por Marcello Malpighi em 1689 (McCRACKEN et al., 1999; NISWENDER et al., 2000) e sua coloração amarela na vaca é causada por altos níveis de β caroteno, um precursor da vitamina A (GRAVES-HOAGLAND et al., 1989).

A progesterona secretada pelo CL interfere diretamente na dinâmica folicular do ciclo estral, no reconhecimento materno da gestação e no seu estabelecimento (BINELLI et al., 2001). Existem relatos de interferência das altas concentrações plasmáticas da progesterona durante o diestro, sobre o crescimento folicular neste período (BERGFELT et al., 1991; LUCY et al., 1992). Este efeito que ocorre no ciclo estral, onde o folículo da primeira onda cresce durante o metaestro sob menores concentrações plasmáticas de progesterona, e o da segunda onda cresce durante o diestro, sob maiores concentrações plasmáticas de progesterona, onde as concentrações de FSH não foram afetadas pelas concentrações circulantes de progesterona. Desta forma, este

efeito pode ter ocorrido pela inibição exercida pela progesterona sob a secreção de LH (KINDER et al.,1996),que reduziu o diâmetro folicular após a seleção do folículo dominante (GINTHER et al.,2001).

As concentrações plasmáticas de progesterona nos bovinos apresentam variações durante o ciclo estral normal, com concentrações abaixo de 1ng/mL ao estro e valores máximos entre 2,3ng/mL para vacas de raças zebuínas (ADEYEMO & HEATH, 1980) e 16,0ng/mL em vacas da raça Holandesa (BADINGA et al., 1994) ao 10º dia, que são mantidas elevadas até o início da regressão do corpo lúteo, caso não ocorra gestação.

O crescimento inicial de CL é exacerbado e seu peso aumenta mais de seis vezes na primeira metade do ciclo estral bovino (ZHENG et al., 1994), secretando quantidades crescentes de progesterona. O CL atinge seu tamanho máximo aproximadamente no 10º dia do ciclo (BINELLI, 2000; SENGER 2003).

Durante o ciclo estral, as variações na concentração de progesterona plasmática refletem a funcionalidade do corpo lúteo, entre sua fase de crescimento, de manutenção e de regressão. No dia do estro a progesterona está em baixa. Após a ovulação, inicia-se a reorganização tecidual com posterior aumento no fluxo sanguíneo ovariano e no peso do corpo lúteo (WILTBANK et al., 1995) e, conseqüentemente, aumentando a síntese de progesterona, que alcança valores máximos ao redor do 10º dia mantendo-se elevada durante o diestro. O início da regressão luteal é acompanhado por diminuição da vascularização e da secreção esteroidal, quando ocorre abrupta redução das concentrações de progesterona cerca de três dias antes do novo estro.

O fornecimento de progesterona exógena próximo ao momento da ovulação reduz a taxa de crescimento do folículo dominante (ADAMS et al., 1992). O mesmo efeito foi relatado por Ginther et al. (1971) em ovelhas, e também foi confirmado em estudo recente (PERES et al., 2009) verificaram que quanto maior a concentração de progesterona no momento da retirada do dispositivo intravaginal contendo 1,9 gramas de progesterona, menor o tamanho do folículo dominante. Os autores relataram ainda, que em vacas *Bos indicus* a probabilidade de prenhez é maior em programas de Inseminação

Artificial em Tempo Fixo (IATF) quanto maior o diâmetro do folículo dominante. Desse modo, observou-se uma menor probabilidade de concepção quanto maior era a concentração plasmática de progesterona no momento da retirada do dispositivo de progesterona. Esses dados estão de acordo com os obtidos em novilhas por Dias et al. (2009) que observaram maiores taxas de concepção conforme aumentou o número de usos do dispositivo.

2.6 Sincronizações com progesterona e/ou progestágenos associado ao estradiol

A ação da progesterona na sincronização do ciclo estral em bovinos tem sido relatada há décadas (LAMOND, 1964; GORDON, 1976). Os animais recebiam injeções diárias em doses variadas por períodos de até 20 dias. Estes tratamentos resultavam em altas taxas de sincronização do estro. No entanto, apresentavam baixa fertilidade, além de sua pouca praticidade, decorrente das aplicações diárias do hormônio (MACMILLAN & PETERSON, 1993). Com o passar do tempo foram desenvolvidos outros métodos de administração de progesterona, que viabilizaram sua utilização em protocolos de sincronização do estro e da ovulação.

Os dispositivos intravaginais de progesterona e o benzoato de estradiol (BE) têm sido amplamente utilizados em programas de sincronização da ovulação para IATF tanto em vacas de corte quanto em vacas de leite (MACMILLAN & PETERSON, 1993; MACMILLAN & BURKE, 1996; BÓ et al., 2002). O tratamento consiste na administração de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (Dia 0), retirada do dispositivo e administração de PGF_{2α} IM, no Dia 7 ou 8, e 1 mg de BE, IM, 24 horas mais tarde (MACMILLAN & BURKE, 1996). Em contraste com diversos relatos que recomendam a sincronização da ovulação com injeção de BE 24 horas após a remoção do dispositivo (BÓ et al., 2002; MARTINEZ et al., 2005; BARUSELLI et al., 2004b) outros estudiosos demonstraram a possibilidade de utilizar o Cipionato de estradiol (ECP) no momento da retirada da fonte de progesterona/progestágeno objetivando minimizar o número de manejos

(COLAZO et al., 2003; MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006) e obter taxas de prenhez similares ao BE (MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006). Além disso, o Cipionato de estradiol semelhantemente ao BE promove a sincronização da ovulação aproximadamente 70 horas após a remoção do dispositivo (REIS et al., 2004; MARTINS et al., 2005). Estudos iniciais indicavam que o melhor momento para se realizar a IATF era entre 52 a 56 horas após a remoção do dispositivo em vacas *B. indicus* (BARUSELLI et al., 2001). Em trabalhos com vacas Nelore (*Bos indicus*), pesquisas mostraram que é possível realizar a IATF por um intervalo maior (48 a 58 horas após a retirada do dispositivo) sem afetar as taxas de prenhez utilizando o protocolo que administra BE 24 horas após a retirada do dispositivo (AYRES et al., 2008; CASTRO JUNIOR et al., 2008) ou com o emprego de Cipionato de estradiol no momento da retirada (AYRES et al., 2006).

Os implantes de progestágenos oferecem alta porcentagem de animais em estro, num período bastante curto, o que possibilita a realização da IATF entre 48 e 60 horas após a retirada do implante. Se isto ocorre é porque o “status” folicular, no final do tratamento é bastante homogêneo entre os animais, o que possibilita a sincronização da ovulação mediante a aplicação de drogas que desencadeiam um pico pré-ovulatório de LH (MADUREIRA, 2000).

Estão disponíveis no mercado dispositivos intravaginais de liberação de progesterona indicados para programas de sincronização do estro e da ovulação. Os principais são: CIDR[®], com 1,9g de progesterona (MACMILLAN et al., 1991), PRID, com 1,55g de progesterona (WINKLER et al., 1977) e DIB, com 1,0g de progesterona (BÓ et al., 2003).

Os dispositivos de progesterona representam grandes custos em um programa de IATF. Uma estratégia para diminuir os custos dos protocolos de IATF é a reutilização dos dispositivos. Diversos trabalhos demonstraram satisfatória eficiência na IATF dos dispositivos de P₄ previamente utilizados (COLAZO et al., 2004; CUTAIA et al., 2001).

2.7 Prostaglandinas (PGF_{2α})

As prostaglandinas são substâncias orgânicas extremamente potentes que aparecem numa grande variedade de tecidos e situações biológicas. Seu nome surgiu quando Von Euler em 1934 supôs que eram substâncias originadas na próstata, portanto prostaglandinas. Alguns anos mais tarde Eliasson (1959) provou que quase todas as prostaglandinas seminais eram originadas nas vesículas seminais e não na próstata, mas o nome permaneceu. As prostaglandinas são derivadas do ácido prostanóico, um ácido graxo hidroxilado, de 20 átomos de carbono com um núcleo ciclopentano. São divididas de acordo com sua estrutura e função, produzindo efeitos biológicos diferentes. Possuem quatro grandes grupos: A, B, E, F. Sendo E e F as mais bem descritas por suas relações com a reprodução.

As prostaglandinas (PGF_{2α}) apresentam atividade luteolítica, o que despertou interesse dos profissionais ligados à reprodução, como recurso potencial para controlar o ciclo estral dos bovinos e de outras espécies de interesse zootécnico. Entre as drogas utilizadas, destacam a PGF_{2α} natural ou seus análogos sintéticos, dentre eles o Cloprostenol, o qual tem sido amplamente utilizado com resultados satisfatórios (CALLEJAS, et al., 1995).

Na década de setenta vários compostos análogos à PGF_{2α} natural foram sintetizados, como o Cloprostenol ou Racemato – DL – Cloprostenol. O Cloprostenol é um líquido altamente viscoso de coloração marrom, parcialmente solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos. Possuem vida média de 1 hora e 37 minutos (COOPER & FURR, 1974).

O Cloprostenol Sódico (Ciosin[®] - Coopers), é uma prostaglandina sintética, apresenta 530µg/dose convencional (2 mL) e possui estabilidade chegando a suportar 50°C durante 90 dias (avaliado pelo laboratório Coopers). O efeito luteolítico do Cloprostenol Sódico já é conhecido e apresenta provas nos resultados a campo, a fertilidade após o uso desta droga é considerada normal (COOPER, 1981; JACKSON et al., 1983; TANABE & HANN, 1984). O uso estratégico do Cloprostenol permite a sincronização e melhor

monitoramento do estro, resultando em melhores possibilidades de manejo e planejamento reprodutivo na propriedade (COOPER, 1981).

Além do Cloprostenol, existem no mercado vários produtos de ação luteolítica, como, Dinoprost Trometamina (TANABE & HANN, 1984), Etiproston (COSTA et al., 2000) e Lupristol (CARDOVA et al., 1990; DUTT et al., 1995), demonstrando que estes produtos são economicamente viável para a sincronização de estro bovino. Isto pode ser importante nos programas de sincronização quando o custo da droga é um fator limitante, especialmente em regiões onde o Cloprostenol é muito oneroso ou de difícil obtenção (HORTA et al., 1986).

A sincronização do estro, através da aplicação de agentes luteolíticos, como a prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$), ou seus análogos, tem sido amplamente utilizada, principalmente em regimes de inseminação artificial, como na técnica de transferência de embriões (TE), para qual é imprescindível. A administração destes agentes luteolíticos em animais no diestro causa a lise do corpo lúteo e, conseqüentemente, os animais manifestam sinais de estro (VISINTIM, 2001). Trata-se de um método prático e que induz um estro de fertilidade comparada ao natural (FERNANDES et al., 1994), desde que seja controlados outros fatores como as condições corporais, o plano nutricional, o manejo reprodutivo adequado e a redução do estresse térmico. Recentemente com a implantação dos protocolos de IATF, aumentou-se a demanda para a utilização destas substâncias.

Em ruminantes domésticos, somente uma pequena quantidade de $PGF_{2\alpha}$ uterina alcança o ovário, por difusão da veia uterina para a artéria ovariana (mecanismo denominado de contra corrente), com mais de 95% da $PGF_{2\alpha}$ sendo metabolizada a componentes inativados como a 15-ceto-13,14-diidroprostaglandina $F_{2\alpha}$, por uma única passagem pelos pulmões (FERREIRA & VANE, 1967).

A prostaglandina causa regressão do corpo lúteo durante a fase do ciclo estral quando há responsividade a este fármaco. Tal responsividade inicia-se no 5º dia do ciclo estral, aumenta até o 12º dia e permanece em fase de platô até o 17º dia, quando se inicia a regressão espontânea pela

prostaglandina endógena (ODDE, 1990; LARSON & BALL, 1992). A partir do momento em que ocorre a regressão do corpo lúteo, o próximo folículo dominante presente terá capacidade ovulatória (KASTELIC et al., 1991). Verificou-se que o intervalo entre a administração e a ovulação foi de três dias, quando o tratamento com prostaglandina foi realizado no 5º dia do ciclo estral, momento no qual o folículo dominante da primeira onda ainda está em fase de crescimento. No caso do tratamento iniciar-se no 12º dia do ciclo estral, o folículo dominante da segunda onda encontra-se no início da fase de crescimento e a ovulação ocorre 4,5 dias após a aplicação. Em bovinos tratados no 8º dia do ciclo estral, ocorre frequentemente a ovulação do folículo dominante da primeira onda folicular quatro dias após a aplicação de prostaglandina. No entanto, ocasionalmente pode ocorrer a ovulação do segundo folículo dominante seis dias após o tratamento (KASTELIC et al., 1991). Devido a esta variação, que ocorre entre o tratamento e a ovulação, faz-se necessária a detecção de estro após o tratamento com prostaglandina visando identificar o momento apropriado para inseminação artificial.

Devido ao seu efeito luteolítico, a $PGF_{2\alpha}$ é um agente efetivo no controle da ovulação em bovinos. No entanto, em condições de campo, a aplicação de $PGF_{2\alpha}$ necessita ser esquematizada para que possa promover a luteólise na maioria dos animais tratados (THATCHER & CHENAULT, 1976). A rotina do uso de $PGF_{2\alpha}$ promove a oportunidade de melhorar a eficiência de detecção de estro e da eficiência reprodutiva (HEUWIESER et al., 1994), uma vez que a eficiente e precisa detecção de estro é o fator chave que determina o sucesso da reprodução dos rebanhos (HEERSCHER JR & NEBEL, 1994).

Ao alcançar o corpo lúteo, o efeito luteolítico da $PGF_{2\alpha}$ resultará da associação com os receptores na membrana plasmática das células luteais, levando a inibição da síntese de progesterona luteal (WAKELING & GREEN, 1981). Um pulso inicial de prostaglandina, mesmo sendo de baixa magnitude, pode potencialmente iniciar os mecanismos para que as grandes células luteínicas produzam consideráveis concentrações locais de $PGF_{2\alpha}$ (TSAI & WILTBANK, 1997). Isto pode explicar porque uma pequena quantidade de $PGF_{2\alpha}$ é capaz de iniciar a regressão luteal. Assim, dois mecanismos podem

existir para a amplificação dos pulsos de $\text{PGF}_{2\alpha}$. Em primeiro, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina pode estimular a liberação de ocitocina pelo CL, a qual estimula a produção de mais $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina dentro de minutos de iniciação do pulso (BAIRD, 1992). Em adição, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ uterina pode estimular a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ intra-luteal (TSAI & WILTBANK, 1997).

A prostaglandina controla somente a regressão do corpo lúteo, não alterando assim a onda de crescimento folicular. Segundo Seguin et al., (1976) citados por Pursley et al. (1995), quando a prostaglandina foi injetada no sétimo ou oitavo dia do ciclo estral, as vacas manifestaram estro 62 ± 9 horas e 100 ± 35 horas após sua aplicação, respectivamente. Portanto, conclui-se que o tempo que a vaca ou novilha vai apresentar manifestações de estro após a aplicação de prostaglandina, irá depender diretamente do estágio em que se encontra o folículo dominante e a presença do corpo lúteo. Caso o folículo dominante esteja em fase final de desenvolvimento, fêmea manifestará estro e/ou ovulará mais rapidamente (PURSLEY et al., 1995).

2.8 Estrógenos e ésteres de estradiol

Os estrógenos são esteróides naturais constituídos por 18 átomos de carbono e têm como principais compostos o 17β -estradiol, a estrona e o estriol produzidos principalmente no ovário, mas também na placenta e na adrenal. Os estrógenos estão distribuídos em todo o organismo, se acumulam no tecido adiposo, são metabolizados no fígado e eliminados principalmente pela urina. O estradiol tem funções na fisiologia reprodutiva como expressão de estro, características sexuais secundárias e liberação de GnRH e LH pelo hipotálamo e hipófise, respectivamente. Atualmente, vários compostos sintéticos que possuem as mesmas atividades biológicas dos estrógenos naturais foram desenvolvidos e têm sido frequentemente empregados em programas reprodutivos (CREPALDI, 2009).

Os estrógenos, assim como os andrógenos são carregados por proteínas na circulação e causam numerosas ações fisiológicas. De todos os esteróides, os estrógenos apresentam a maior variação de funções fisiológicas.

Em fêmea, estas incluem efeitos no desenvolvimento, ações neuroendócrinas envolvidas no controle da ovulação, preparo cíclico do trato reprodutivo para a fertilização e implantação do óvulo e as principais ações no metabolismo mineral, dos carboidratos, das proteínas e dos lipídeos (STELLA, 2004).

O estradiol é o estrógeno biologicamente ativo produzido pelo ovário, geralmente, a principal função dos estrógenos é induzir a proliferação celular e o crescimento dos tecidos relacionados à reprodução. As respostas teciduais induzidas pelos estrógenos incluem estimulação do crescimento glandular endometrial, estimulação do crescimento de dutos na glândula mamária, aumento na atividade secretora dos dutos uterinos, indução da receptividade sexual, regulação da secreção de hormônio luteinizante (LH) pela glândula pituitária anterior, possível regulação da liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo útero não gravídico e gravídico, anabolismo protéico e atividade epitéliotrófica (STELLA, 2004).

Por mais de 30 anos, estudos vêm sendo realizados com o objetivo de se formular diferentes tratamentos para sincronização de estro utilizando progestágenos e progesterona. O uso do estradiol em combinação com tratamentos progesterona/progestágeno iniciou quando se descobriu que o estradiol induz regressão luteal (WILTBANK et al., 1961). Durante os anos 90, se observou que o tratamento com estradiol suprime o crescimento do folículo antral (BÓ et al., 1991). O estradiol e seus ésteres são amplamente utilizados para promover o controle farmacológico do ciclo estral em fêmeas bovinas, uma vez que na ausência de progesterona, a administração de estrógeno pode estimular a liberação de GNRH/LH e causar a ovulação do folículo dominante (MOENTER et al., 1990). A administração de 5mg de estradiol-17 β (E-17 β) em implantes de progesterona sincronizou a emergência de uma nova onda folicular, em média, $4,3 \pm 0,2$ dias mais tarde (BÓ et al., 1995b).

A importância da utilização do estradiol no início do protocolo de sincronização de estro consiste em suprimir o desenvolvimento folicular existente, através do aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol que, por sua vez, ocasiona uma redução nas concentrações de FSH. Uma vez que as concentrações de estradiol declinam, uma sincronizada liberação de FSH e

a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular ocorrem (MARTINEZ et al., 2004). O tempo entre a administração de estradiol e o início da nova onda varia principalmente de acordo com a fonte e dose de estradiol utilizada, sendo este um fator importante a ser considerado quando se avalia a resposta obtida com a utilização de certos protocolos (BURKE et al., 2003). A variação no início da nova onda nos tratamentos com estradiol associado à progesterona pode, ao final do tratamento, induzir folículos de tamanho, maturidade, e capacidade esteroidogênica variáveis (VASCONCELOS et al., 1999; DAY, 2005).

Diferentes tipos de ésteres de estradiol, incluindo benzoato de estradiol, valerato de estradiol e cipionato de estradiol (ECP) estão disponíveis comercialmente na América do Sul. Todos estes ésteres são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (BÓ et al., 1995b). O estrógeno pode estimular ou inibir a liberação de gonadotrofinas, dependendo da dose e das concentrações sanguíneas de progesterona. Em doses fisiológicas e baixas concentrações de progesterona, o estrógeno estimula a liberação de LH para que ocorra a ovulação. Ao contrário, elevadas doses de estrógenos, na presença de elevadas concentrações de progesterona, bloqueiam as gonadotrofinas, inibindo principalmente a produção e liberação de LH e FSH. Além disso, o estrógeno é fundamental para a expressão de receptores para ocitocina no endométrio, o que é importante no processo de liberação de $PGF_{2\alpha}$ para regressão do corpo lúteo (MORAES et al., 2002).

Quando administrado pouco tempo após a ovulação, o estradiol aparentemente age como antiluteotrófico (LEMON, 1975 apud DRIANCOURT, 2001) e quando administrado na presença de um corpo lúteo ativo, geralmente é luteolítico, apesar da habilidade para induzir a regressão do CL ser mais limitada nos primeiros dias de atividade do CL (5 dias pós-ovulação) do que mais tarde (PRATT et al., 1991). Falhas na regressão do corpo lúteo pela ação do estradiol resultam em falhas na sincronização (DRIANCOURT, 2001).

2.9 Uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG)

A eCG/PMSG foi uma das primeiras gonadotrofinas disponíveis comercialmente sendo utilizada para induzir superovulação (HAFEZ, 1995). A vantagem de utilizar a eCG/PMSG nos protocolos de sincronização, é que este hormônio é administrado no momento da remoção do implante de progestágenos, evitando assim um trabalho a mais de manipulação quando comparado a outros protocolos (MOREIRA, 2002).

A eCG é um fármaco de meia vida longa (até 3 dias), produzido nos cálices endometriais da égua prenhe (40 a 130 dias; MURPHY & MARTINUK, 1991) e que se liga aos receptores foliculares de FSH e de LH e aos receptores de LH do corpo lúteo (STEWART & ALLEN, 1981). A eCG cria condições de crescimento folicular e de ovulação e seu uso tem-se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, em fêmeas recém paridas (período pós parto inferior a dois meses) e em animais com condição corporal comprometida (BARUSELLI et al., 2004b).

Uma característica importante da molécula de eCG é a existência de grande quantidade de carboidratos (aproximadamente 45% de sua massa) principalmente a N-acetil neuramina (ou ácido siálico), primordialmente presente na subunidade β da molécula de eCG, o que proporciona uma grande meia vida a este composto químico (MURPHY & MARTINUK, 1991). Ainda, além do alto peso molecular e da presença de ácido siálico, a molécula de eCG é carregada negativamente, o que dificulta a sua filtração glomerular e aumenta ainda mais sua meia-vida. Devido a todos estes fatores, a meia-vida da eCG quando aplicado em bovinos é longa (SOUZA, 2008).

A eCG possui a capacidade de se ligar tanto aos receptores de LH quanto do FSH (MURPHY & MARTINUK, 1991) e pode ser importante para incrementar o crescimento final do folículo dominante e estimular a síntese de estradiol. A eCG pode ser útil em vacas de corte amamentando, com baixa condição corporal (ROCHE et al., 1992) ou vacas tratadas precocemente no período pós parto (ROSSA, 2002) ou com alta incidência de anestro (BÓ et al., 2003) mas pode ser desnecessário em vacas ciclando ou com boa condição

corporal (KASTELIC et al.,1999). Cavalieri et al. (1997) observaram um incremento no grau de sincronização com redução significativa da variação no tempo para o pico pré-ovulatório de LH e ovulação, quando administraram 400 UI de eCG na retirada do implante de norgestomet.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar o efeito da progesterona e prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em vacas Nelore (*Bos indicus*).

3.2 Específicos

- Efeito do dispositivo intravaginal de P_4 novo ou previamente utilizado na taxa de concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes e não lactantes submetidas à IATF;
- Verificar o efeito da administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ sobre a dinâmica folicular em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes;
- Verificar as concentrações plasmáticas de P_4 em vacas Nelore (*Bos indicus*), durante o tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$ associada ao dispositivo intravaginal de P_4 ;
- Avaliar o efeito do tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$ associada ao dispositivo intravaginal de P_4 na taxa de ovulação e concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes.

4 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos o setor pecuário vem passando por diversas transformações positivas, que são resultantes do uso de biotecnologias, como por exemplo, a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Para que se possa obter sucesso nesta tecnologia é necessário utilizar de forma adequada os hormônios exógenos. Estes promovem a sincronização do estro e da ovulação nos bovinos. O manejo nutricional também é determinante no sucesso dessa biotécnica reprodutiva, pois a condição corporal está associada com a fertilidade da matriz.

A sincronização da ovulação para a realização da IATF é uma biotecnologia que está se consolidando na pecuária de corte e leite. Considerando a grande importância do Maranhão no cenário nacional de pecuária de corte, apresentando um efetivo bovino com cerca de 6,9 milhões (IBGE, 2010), sendo considerado o segundo Estado produtor de bovinos da região Nordeste, é fundamental pesquisas no setor pecuário que visem otimizar a eficiência reprodutiva e aumentar a rentabilidade do sistema de produção, pois sabe-se que no setor pecuário a palavra de ordem é: eficiência produtiva e reprodutiva.

Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi verificar o efeito do dispositivo intravaginal de progesterona (P_4), novo ou previamente utilizado por 8 dias na taxa de concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes e não lactantes submetidas a IATF. Ainda, foi verificado o efeito da luteólise precoce por meio da administração de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) em protocolos de sincronização que utilizam dispositivo intravaginal de P_4 novo, em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes. Nesta perspectiva, objetivou-se, também, propor novas alternativas para o sistema de cria bovina, tornando os protocolos de sincronização da ovulação para IATF cada vez mais viáveis.

5 EXPERIMENTO 1 – Efeito do dispositivo intravaginal de progesterona novo ou previamente utilizado na taxa de concepção de vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes e não lactantes submetidas à Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF).

5.1 HIPÓTESE

A progesterona endógena de origem lútea tem efeito negativo na concepção de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas com progesterona (P₄) exógena para IATF.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Local e animais experimentais

O experimento 1 foi conduzido no interior do Estado do Maranhão, Brasil, na fazenda Criméia de propriedade da OMX Agropecuária, localizada no Município Parnarama (figura 1).



FIGURA 1. Município de Parnarama - MA.
Fonte: Wikipédia, 2012.

O município de Parnarama pertence a Mesorregião Leste Maranhense (IBGE, 2008), localiza-se à latitude 05°40'55" Sul e longitude 43°05'34" Oeste, a 79 metros de altitude, clima classificado segundo Koppen como tropical úmido do subtipo Aw (estação seca de inverno) (PEREIRA, et al.; 2002).

5.2.2 Avaliação do Escore de Condição Corporal (ECC)

Previamente ao início de cada experimento, todas as vacas foram avaliadas quanto ao escore de condição corporal (ECC), utilizando-se uma escala de um a 5 pontos, de acordo com Lowman et al. (1976). Foram selecionadas aquelas com ECC entre 3,0 a 4,0. Nos experimentos as vacas foram mantidas em condições similares de manejo: pastagens de *Brachiaria* (*B. brizantha*), água e sal mineral *ad libitum*.

5.2.3 Delineamento experimental

Um total 1006 vacas foram submetidas a IATF, sendo 657 vacas em lactação (anestro pós parto; 50 a 70 dias pós-parto) e 349 não lactantes (cíclicas; 210 a 240 dias pós-parto). Os animais de cada categoria foram alocados em dois tratamentos, empregando-se delineamento fatorial 2x2 (lactantes vs. não lactantes e dispositivos novos vs. previamente utilizado por oito dias), compondo, assim, quatro grupos experimentais: vacas lactantes com dispositivo novo (n=294) ou usado (n=363), vacas não lactantes com dispositivo novo (n=151) ou usado (n=198).

Conforme ilustrado na figura 2, em dia aleatório do ciclo estral (Dia 0), as fêmeas receberam os dispositivos intravaginais (1g de P₄; DIB[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil; novo ou previamente utilizado por 8 dias). Simultaneamente, receberam 2 mg de benzoato de estradiol (IM; Estrogin[®], Farmavet, Brasil).

Na ocasião da remoção dos dispositivos de P₄ (dia 8 do protocolo), todas as vacas foram tratadas com 25mg de Dinoprost (IM; Lutalyse[®], Pfizer,

Brasil), 1mg de cipionato de estradiol (IM; ECP[®], Pfizer, Brasil) e 300UI de gonadotrofina coriônica equina (IM; eCG; Novormon[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil). A IATF foi realizada no dia dez (D10) de 48 a 52 horas após a remoção do dispositivo intravaginal. A taxa de concepção foi avaliada por ultrassonografia (CHISON 500VET, USP Eletromedicina, Brasil) 30 dias após a IATF.

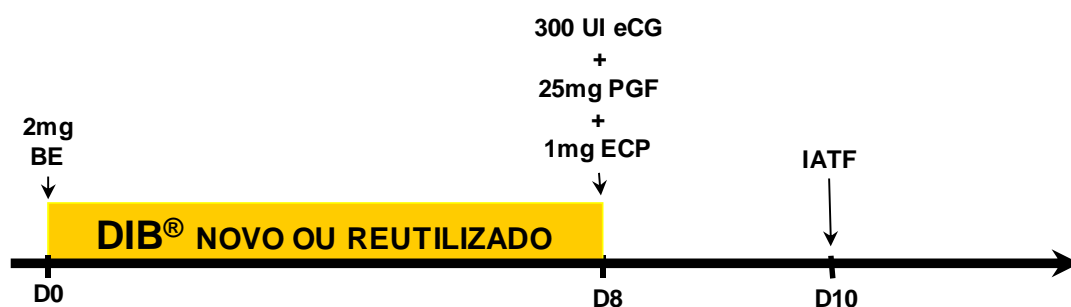


FIGURA 2. Protocolo base de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo.

5.2.4 Análise estatística

A análise dos dados foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows SAS[®] (SAS, 2001). A taxa de concepção foi analisada como distribuição binomial por meio da função LOGIT do aplicativo PROC GENMOD do SAS[®]. O efeito das variáveis categoria animal, número de usos do dispositivo de progesterona e suas respectivas interações foram analisadas por regressão logística pelo PROC LOGISTIC do SAS[®]. O nível de significância adotado para rejeitar H₀ (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$) foi considerado efeito das variáveis classificatórias e das suas interações. As variáveis classificatórias consideradas no modelo estatístico para verificação dos efeitos e interações foram: tratamento, escore de condição corporal, sêmen, inseminador e animal.

5.3 RESULTADOS

Houve interação entre categoria animal e o número de usos do dispositivo ($P=0,001$), conferindo diferença significativa entre os respectivos tratamentos ($P<0,05$). Os resultados apresentados na tabela 1 mostram que a taxa de concepção das vacas lactantes com dispositivo previamente utilizado foi similar à do tratamento com dispositivo novo ($P>0,05$).

Ainda na tabela 1 verificou-se diminuição significativa na taxa de concepção quando as vacas não lactantes foram sincronizadas com dispositivo intravaginal de P_4 novo ($P=0,0007$).

TABELA 1. Efeito do dispositivo intravaginal de progesterona (1g de P_4) novo ou previamente utilizado na taxa de concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes e não lactantes. Parnarama - MA, 2010

| | Tratamentos | | | | Valor de <i>P</i> | | |
|---------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------|-----------|
| | Lactantes | | Não Lactantes | | Categoria | Dispositivo | Interação |
| | Novo | Usado | Novo | Usado | | | |
| Total | 294 | 363 | 151 | 198 | | | |
| Prenhes | 152 | 189 | 51 | 91 | | | |
| % | 51,7 ^a | 52,1 ^a | 33,8 ^b | 46,0 ^a | 0,0007 | 0,18 | 0,001 |

^{abc} $P<0,05$ (PROC GENMOD, SAS).

5.4 DISCUSSÃO

Silva et al. (2011) realizaram um experimento em vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo e tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®]1,9 de P_4) novo e previamente utilizado uma ou duas vezes (usado nove e dezesseis dias), obtiveram taxa de concepção semelhante, 55% vs. 46,39% vs. 46,75%; respectivamente. Esses dados coincidem com os do presente estudo, no qual não foi verificada diferença na taxa de concepção entre vacas lactantes tratadas com dispositivos novos ou previamente utilizado por 8 dias (51,7% vs. 52,1%, respectivamente, $P>0,05$).

Melo et al. (2012) compararam a taxa de concepção em fêmeas Nelore multíparas lactantes, primíparas lactantes (ambas pelo menos 30 dias

pós parto) e novilhas, com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®] 1,9g de P₄) 1^o, 2^o, 3^o e 4^o uso (cada uso por nove dias), com administração de 2mg de benzoato de estradiol no momento da inserção do dispositivo intravaginal de progesterona e prostaglandina 48 horas antes da remoção dos dispositivos, as taxas de concepção foram estatisticamente diferentes. Para as vacas Nelore multíparas obtiveram taxa de concepção de 60,0%, 56,7%, 58,3% e 59,2%. Para as primíparas lactantes, taxas de 51,0%, 47,4%, 47,3% e 46,2% e para as novilhas, 56,7%, 53,1%, 51,4% e 51,9%, respectivamente. O autor conclui que a reutilização de CIDR[®] é uma medida importante para reduzir o custo da IATF, sendo uma alternativa viável para melhorar o custo-benefício dessa técnica.

Investigações sobre o dispositivo DIB[®] (1g de P₄) mostraram concentrações de progesterona iniciais de 5-6ng/mL, que diminuem para cerca de 2-3ng/mL depois de dois dias, permanecendo constante até o sétimo ou oitavo dia (BÓ et al., 2003). Maio et al. (2008) analisaram o perfil plasmático de progesterona em novilhas ovariectomizadas e observaram que dispositivos intravaginais contendo 1 grama de progesterona com diferentes usos (novos, previamente utilizados por 8 ou 16 dias) foram eficientes em manter a concentração plasmática de progesterona acima de 1ng/mL durante oito dias. Por outro lado, Santos et al. (2004) trabalhando com novilhas cruzadas Nelore x Angus observaram que o CIDR[®] (1,9g de P₄) foi eficiente para manter concentrações plasmáticas de progesterona acima de 1 ng/mL durante 25 dias, enquanto que o DIB[®] (1g de P₄) foi eficiente por apenas 13 dias. Essa diminuição na concentração sérica de P₄ observada com o uso do DIB[®] poderia aumentar a pulsatilidade de LH, potencializando a taxa de crescimento folicular e antecipando a ovulação (CARVALHO et al., 2008). Assim, ressalta-se a importância de adequar o fármaco à categoria animal e ao objetivo do protocolo de sincronização.

De acordo com esses dados, vacas Nelore lactantes 50 a 70 dias pós-parto podem ser sincronizadas com dispositivo novo ou previamente utilizado por oito dias como fonte exógena de progesterona, sem que haja comprometimento na taxa de concepção.

No presente estudo foi observado um aumento significativo na taxa de concepção das vacas Nelore não lactantes quando foram sincronizadas com o dispositivo intravaginal de P₄ previamente utilizado por oito dias quando comparado as vacas da mesma categoria sincronizadas com dispositivo novo (46,2% vs. 33,8%, respectivamente, P=0,0007) mostrando significativa interação entre a categoria animal e o uso prévio do dispositivo (P<0,001). Cutaia et al. (2006) utilizando novilhas cruzadas tratadas com implantes de 1 ou 0,5g de P₄ novos ou reutilizados obtiveram taxa de prenhez de 43,3%, 45%, 48,3% e 20% (DIB[®] 1g novo, 1g reutilizado, 0,5g novo, 0,5g reutilizado, respectivamente). Observou-se redução significativa na concepção (P<0,003) do grupo DIB[®] 0,5 de P₄ reutilizado. Assim, os autores concluíram que este não é indicado para um segundo uso.

Rocha et al. (2007) avaliaram a eficiência da reutilização do dispositivo intravaginal de progesterona (DIB[®]) por até quatro vezes, em vacas Nelore submetidas a IATF, relataram taxa de concepção de 50,06%, 56,52%, 52% e 31,57% para implantes novos, reutilizados uma, duas e três vezes, respectivamente. Observou-se diferença estatística no grupo tratado com (DIB[®]) de quarto uso. Bó e Cutaia (1998) compararam a concepção de vacas *Bos taurus x Bos indicus* não lactantes tratadas com DIB[®] novos e que haviam sido previamente utilizados por sete dias, a taxa de concepção foi estatisticamente diferente, e relataram 49,5% para dispositivos novos e 59,7% após segundo uso. Dessa forma, concluíram que é possível reutilizar esses dispositivos por uma segunda vez em tratamentos de sincronização de estros para IATF em bovinos.

A interpretação geral das pesquisas anteriormente citadas consolida a necessidade de manter as concentrações de progesterona acima de 1ng/mL como forma de conter a antecipação do pico de LH evitando ovulação antecipada/desincronização. De acordo com Fike et al. (2004) a progesterona não influencia marcadamente a frequência do LH, porém o seu “clearance” interfere na amplitude da onda/pico de LH.

Os hormônios utilizados nos protocolos para a sincronização do estro em bovinos, principalmente os dispositivos de progesterona,

correspondem ao maior custo, que muitas vezes inviabiliza a utilização do protocolo. Dessa forma, visando a melhoria da relação custo/benefício dos programas de IATF, alguns implantes de progesterona permitem sua reutilização (MOTOMELO et al., 2002), configurando-se como uma interessante alternativa para a redução dos custos dos protocolos que utilizam esses implantes (ALMEIDA et al., 2006).

De acordo com Crepaldi (2009) a reutilização de dispositivos tem sido uma alternativa para viabilizar economicamente a IATF em larga escala para rebanhos comerciais.

Castro Junior et al. (2008) e Crepaldi (2009) ressaltam ainda que têm sido descritas na literatura diferentes respostas das fêmeas tratadas com implantes auriculares ou dispositivos intravaginais previamente utilizados, indicando que o momento da ovulação e a taxa de concepção parecem estar associados ao tipo de implante ou dispositivo utilizado (novos ou usados) e ao momento em que as fêmeas são inseminadas em tempo fixo.

A maior concentração de progesterona circulante durante o tratamento com dispositivo de progesterona reduz a pulsatilidade de LH, receptores foliculares de LH e crescimento folicular (IRELAND & ROCHE, 1987). Além disso, parece provável que a presença de folículos ovulatórios de menor diâmetro pode contribuir para falhas de ovulação, ovulação tardia, menor área de CL e queda na taxa de prenhez (CARVALHO et al., 2008).

No presente estudo foi verificada menor taxa de concepção na categoria vacas não lactantes quando sincronizadas com dispositivo intravaginal de P₄ novo. Apesar das concentrações séricas de P₄ não terem sido avaliadas, é provável à alta taxa de ciclicidade em vacas de corte após a desmama (210 – 240 dias pós-parto), que segundo Baruselli et al. (2004a) apresentam corpo lúteo produzindo suporte endógeno adicional de progesterona, que somado à alta P₄ exógena proveniente do dispositivo novo, inibem o LH.

5.5 CONCLUSÃO

A progesterona endógena de origem lútea associada à progesterona exógena diminui a taxa de concepção à IATF em Vacas Nelore (*Bos indicus*) não lactantes.

6 EXPERIMENTO 2 – Efeito da luteólise precoce na dinâmica folicular em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes.

A primeira etapa desta pesquisa, já apresentada anteriormente, foi definida como experimento 1 (n=1006), cujos resultados fundamentaram os delineamentos dos experimentos 2 (n = 44) e 3 (n = 342), que seguem adiante.

6.1 HIPÓTESE

A progesterona endógena de origem lútea associada à progesterona exógena têm efeito negativo na dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas para IATF, devendo ser submetidas à luteólise precoce para potencializar o crescimento folicular e possibilitar maior taxa de ovulação.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Local e animais experimentais

O experimento 2 foi conduzido no interior do Estado do Maranhão, Brasil, na fazenda Mercantil Duas Irmãs, localizada no Município Santa Inês – MA (figura 3).



FIGURA 3. Município de Santa Inês - MA.
Fonte: Wikipédia, 2012.

O Município de Santa Inês pertence a Mesorregião Oeste Maranhense (IBGE, 2008), localiza-se à latitude 03°40'00" Sul e longitude 45°22'48" Oeste, a 24 metros de altitude, clima classificado segundo Koppen como tropical úmido do subtipo Aw (estação seca de inverno) (PEREIRA, et al.; 2002).

As condições de manejo e a metodologia adotada para classificação do escore de condição corporal (ECC) foram às mesmas já descritas anteriormente no subitem 5.2.2.

6.2.2 Delineamento experimental

No experimento 2 um total de 44 vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes foram distribuídas homogeneamente para receber três diferentes protocolos de sincronização da ovulação e submetidas a dinâmica folicular. Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado, utilizando-se como tratamento experimental, o momento da administração de prostaglandina (25mg de Dinoprost, PGF_{2α}, IM; Lutalyse[®], Pfizer, Brasil).

Previamente foi realizado exame ultra-sonográfico (ultra-som CHISON 500VET, USP Brasil Eletromedicina, Brasil) por meio do qual foi atribuído um escore de condição ovariana (ECO) descrito na tabela 2. Foram selecionadas aquelas fêmeas que possuíam escore ovariano 1, ou seja, presença de corpo lúteo.

TABELA 2. Escore de condição ovariana.

| ECO* | Características |
|------|--|
| 1 | Fêmeas ciclando, ovários com comprimento acima de 30mm, macios, presença de CL (Corpo lúteo), ou útero com turgidez acentuada, denotando a presença de folículos grandes (>10mm), estrógeno-ativo |
| 2 | Fêmeas em anestro, ovários com comprimentos entre 15-30 mm, ausência de CL e de turgidez no útero. Incluem-se nesta categoria, animais cujos folículos atingem a fase de dominância (≥8,5mm), mas não ovulam |
| 3 | Fêmeas em anestro, ovários pequenos, duros e lisos. Nesta categoria são incluídos animais cujos folículos não chegam até a divergência |

ECO* = escore de condição ovariana; metodologia adaptada de Madureira & Pimentel (2005)

Todas as vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes foram tratadas com 25mg de Dinoprost (IM; Lutalyse[®], Pfizer, Brasil), em um intervalo de doze dias (dias -24 e -12) para assegurar que todas estivessem em fase de diestro ao início do protocolo experimental (D0).

Conforme ilustrado nas figuras 4 a 6, no dia zero (D0) todas as vacas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®] 1,9 de P₄, Pfizer, Brasil) novo e administrou-se 2mg de benzoato de estradiol (IM; Estrogin[®], Farmavet, Brasil). Nesta ocasião (D0), formaram-se três tratamentos experimentais:

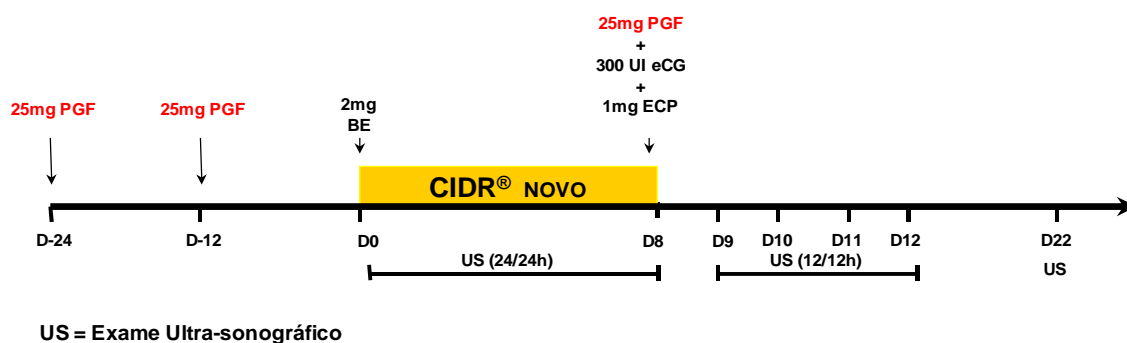
- **Grupo D8 (n=14)** - Protocolo convencional (controle) - PGF_{2α} administrada no dia oito (D8) do tratamento hormonal (somente na ocasião da remoção do dispositivo intravaginal de P₄).

- **Grupo D6 (n=15)** - PGF_{2α} administrada no dia seis (D6) do tratamento hormonal (48 horas antes da remoção do dispositivo intravaginal de P₄).

- **Grupo D0/8 (n=15)** - PGF_{2α} administrada no dia zero (D0) e dia oito (D8) do tratamento hormonal (nas ocasiões da inserção e remoção do dispositivo intravaginal de P₄).

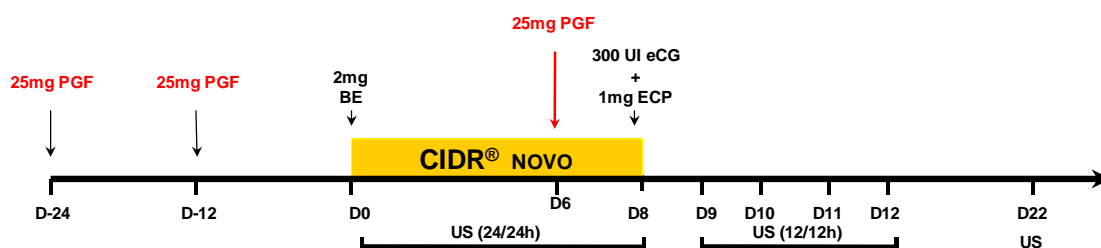
Independentemente da ocasião, todas as vacas foram tratadas com aplicações 25mg de Dinoprost (IM; Lutalyse[®], Pfizer, Brasil), sendo que o grupo D0/8 recebeu duas aplicações com a mesma dosagem, cada.

No oitavo dia (D8) foram removidos os dispositivos intravaginais de progesterona de todos os animais e administrou-se 300UI de gonadotrofina coriônica equina (IM; eCG; Novormon[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil). Adicionalmente, ainda na ocasião da remoção dos dispositivos, todos os animais receberam 1mg de cipionato de estradiol (IM; ECP; Pfizer, Brasil). Entre 24 e 96 horas após a remoção dos dispositivos, o crescimento folicular foi acompanhado por ultra-sonografia, na perspectiva de detectar o momento da ovulação.



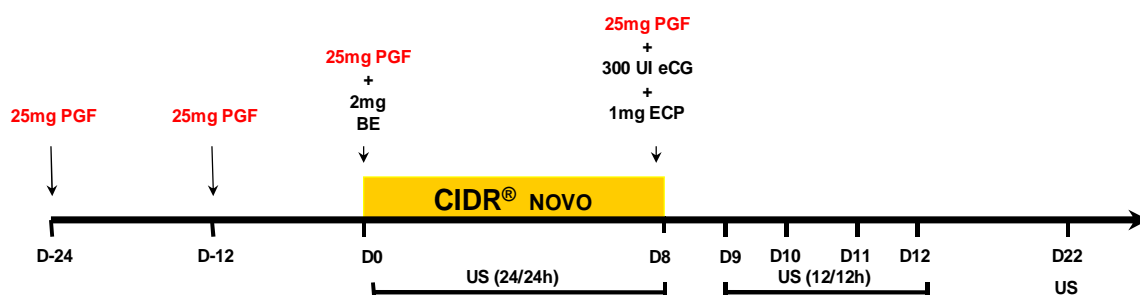
US = Exame Ultra-sonográfico

FIGURA 4. Protocolo convencional (controle) $PGF_{2\alpha}$ administrada no D8 do tratamento hormonal.



US = Exame Ultra-sonográfico

FIGURA 5. $PGF_{2\alpha}$ administrada no D6 do tratamento hormonal.



US = Exame Ultra-sonográfico

FIGURA 6. $PGF_{2\alpha}$ administrada no D0 e no D8 do tratamento hormonal.

6.2.3 Avaliação ultra-sonográfica transretal e dinâmica folicular

Conforme ilustrado anteriormente nas figuras 4 a 6, previamente à inserção do dispositivo intravaginal de P_4 , foi realizado exame ultra-sonográfico (US) nas vacas de todos os tratamentos, desde o dia da inserção (D0) do

dispositivo intravaginal de P4 ao dia da remoção (D8), os exames US foram realizados a cada 24 horas para o acompanhamento da dinâmica folicular. Foi aferida a população folicular e o diâmetro em milímetros dos dois maiores folículos.

A partir do dia nove (D9) ao dia 12 (D12), os exames US foram realizados a cada 12 horas para verificar o momento da ovulação. A ovulação foi caracterizada como sendo o desaparecimento do folículo ovulatório identificado na avaliação anterior e, seu momento, foi definido como sendo a média de tempo entre dois últimos exames ultra-sonográficos consecutivos no intervalo de 12 horas.

Após dez dias do último exame ultra-sonográfico, foi realizado o US final, no dia vinte e dois (D22) do protocolo experimental, para reconfirmar a ocorrência das ovulações através da presença do corpo lúteo (CL). Todos os exames ultra-sonográficos foram realizados pelo mesmo técnico.

6.2.4 Dosagem hormonal

Conforme ilustrado na figura 7 as amostras sanguíneas (AS) foram coletadas através da punção venosa coccígea, com auxílio de tubos tipo vaccuntainer de todas as vacas Nelore (*Bos indicus*), sempre no período da manhã. Entre os dias zero (D0) e seis (D6) as coletas foram realizadas a cada 72 horas e do dia seis (D6) ao dia dez (D10), a cada 24h. A última coleta foi realizada no dia vinte e dois (D22) do protocolo experimental.

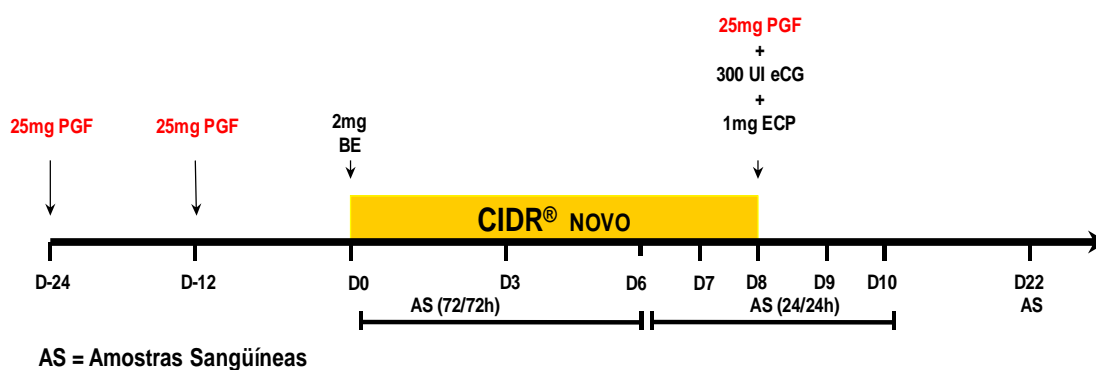


FIGURA 7. Coletas de sangue realizadas durante o tratamento hormonal.

Imediatamente após cada coleta todas as amostras foram centrifugadas (3600g por 3 minutos, Centrífuga Excelsa Baby, Fanem[®]) o sobrenadante (soro) foi pipetado e acondicionado em criotubos (tipo *ependorf*), em seguida foram armazenados em freezer a -20°C, para posterior dosagem hormonal de progesterona.

A concentração de progesterona no plasma foi determinada por radioimunoensaio (RIA), utilizando o kit COAT-A-COUNT Progesterone[®] em fase sólida (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, EUA). Essas análises foram realizadas no Laboratório de Ciências Fisiológicas, setor de radioimunoensaio da Universidade federal do Piauí (UFPI). A sensibilidade do teste foi de 0,07ng/mL, e os coeficientes de variação (CV) intra-ensaio e inter-ensaio foram inferiores a 10%.

6.2.5 Análises estatísticas

A análise dos dados foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows SAS[®] (SAS, 2001). Através do aplicativo GUIDED DATA ANALYSIS do SAS[®], os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos e à homogeneidade das variâncias, sendo verificada a necessidade de transformação dos dados (logaritmo na base 10 – $\log_{10} X$; Raiz quadrada – \sqrt{X} ; Quadrado – X^2), de tal modo que esses atendam às pressuposições da análise de variância.

As variáveis diâmetro folicular, momento da ovulação e concentrações de progesterona foram analisadas pelo aplicativo PROC GLM do SAS[®] e as diferenças entre os tratamentos foram avaliadas pelo teste Duncan. A dispersão das ovulações foi comparada pelo teste de Bartlett (PROC SUMMARY NWAY do SAS[®]). A taxa de ovulação foi analisada como distribuição binomial por meio da função LOGIT do aplicativo PROC GENMOD do SAS[®].

O nível de significância adotado para rejeitar H₀ (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05

($p < 0,05$), foi considerado efeito das variáveis classificatórias e das suas interações.

As variáveis respostas (dependentes) analisadas de acordo com os procedimentos experimentais foram: diâmetro folicular, taxa de crescimento folicular, momento da emergência, momento da divergência, tempo entre a emergência e divergência da nova onda folicular, momento da ovulação, taxa de ovulação e concentrações plasmáticas de progesterona.

6.3 RESULTADOS

Os dados da tabela 3 indicam que não houve diferença significativa no dia da emergência e no dia da divergência da nova onda folicular ($P > 0,05$). Também não houve diferença no intervalo entre a emergência e divergência, D0/8 ($3,1 \pm 0,2$ dias), D6 ($2,7 \pm 0,3$ dias) e D8 ($2,7 \pm 0,2$ dias), respectivamente. Como mostra a tabela 3, a taxa de atresia geral foi estatisticamente diferente entre os tratamentos D8 e D6.

Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) na taxa de crescimento geral do folículo dominante (FD) entre os tratamentos hormonais D6 e D0/8, porém, ambos diferiram estatisticamente quando comparado ao tratamento D8. Verificou-se que o tratamento D0/8 foi diferente ($P < 0,05$) dos demais em relação à taxa de crescimento do FD da emergência folicular à remoção (dia 8) do dispositivo de P4. Porém, da remoção do dispositivo à ovulação não houve diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

TABELA 3. Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, dia da divergência, taxa (Tx) de atresia geral, taxa de crescimento geral do folículo subordinado (FS) e dominante (FD), taxa de crescimento do FD da emergência ao dia da remoção do dispositivo (D8) e do D8 à ovulação (OV) em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ associada à administração de PGF_{2α} no D0. Santa Inês – MA, 2011

| Tratamento | n | Momento emergência (dia) | Momento divergência (dia) | Tx de Atresia Geral (mm) | Tx de Crescimento Geral FS (mm) | Tx de Crescimento Geral FD (mm) | Tx Crescimento FD D3 ao D8 (mm/dia) | Tx Crescimento FD D8 a OV (mm/dia) |
|------------|----|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| D8 | 14 | 3,5±0,2 | 6,2±0,2 | 0,8±0,1 ^a | 0,1±0,3 | 0,6±0,1 ^b | 0,8±0,1 ^b | 1,0±0,3 |
| D6 | 15 | 3,2±0,1 | 5,9±0,2 | 0,3±0,1 ^b | 0,3±0,1 | 1,0±0,1 ^a | 0,9±0,1 ^b | 1,3±0,2 |
| D0/8 | 15 | 3,3±0,1 | 6,4±0,2 | 0,5±0,1 ^{ab} | 0,2±0,1 | 1,1±0,1 ^a | 1,1±0,1 ^a | 1,1±0,1 |

^{abc} P<0,05 (Teste de Duncan - ANOVA PROC GLM, SAS[®])

^{ABC} P<0,05 (PROC GENMOD, SAS[®])

Os dados da tabela 4 indicam que os animais do tratamento D0/8 apresentaram diferença estatística ($P < 0,05$) no diâmetro do folículo subordinado (FS) e do folículo dominante (FD) na divergência folicular quando comparadas as dos tratamentos D6 e D8. O diâmetro do FD na remoção (dia 8) do dispositivo de P₄ diferiu estatisticamente entre os tratamentos D8 e D0/8, assim, como o diâmetro máximo do FD. Pode-se observar ainda que o diâmetro do FD no tratamento D6 na remoção do dispositivo não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$), quando comparado aos tratamentos D0/8 e D8.

Verificou-se que o diâmetro máximo do FD foi numericamente maior no tratamento D0/8. Porém, não houve diferença estatística ($P > 0,05$), quando comparado ao tratamento D6. No entanto, ambos diferiram ($P < 0,05$) quando comparados ao tratamento D8.

Não foi observada diferença significativa entre os tratamentos para o diâmetro máximo do folículo ovulatório e o momento da ovulação.

A taxa de ovulação foi numericamente maior no tratamento D0/8. Porém, não diferiu estatisticamente quando comparado ao tratamento D6. No entanto, ambas diferiram quando do tratamento D8 (tabela 4).

TABELA 4. Diâmetro (\emptyset) do folículo subordinado (FS) e dominante (FD) na divergência folicular, diâmetro do folículo dominante na remoção (D8) do dispositivo, diâmetro máximo do folículo dominante e folículo ovulatório (FO), momento da ovulação e taxa (Tx) de ovulação em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclica não lactantes tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ associada à administração de PGF_{2 α} no D0. Santa Inês – MA, 2011

| Tratamento | n | \emptyset FS divergência (mm) | \emptyset FD divergência (mm) | \emptyset FD no D8 (mm) | \emptyset Máximo FD (mm) | \emptyset Máximo FO (mm) | Momento Ovulação (h) | Tx de Ovulação % (n/total) |
|------------|----|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|----------------------------------|
| D8 | 14 | 4,1 \pm 0,2 ^b | 5,9 \pm 0,2 ^b | 6,9 \pm 0,4 ^B | 8,1 \pm 0,7 ^b | 11,4 \pm 0,8 | 68,4 \pm 8,0 | 35,7% (5/14) ^B |
| D6 | 15 | 4,0 \pm 0,2 ^b | 5,7 \pm 0,1 ^b | 7,6 \pm 0,3 ^{AB} | 9,7 \pm 0,4 ^a | 10,4 \pm 0,4 | 65,0 \pm 4,0 | 80,0% (12/15) ^A |
| D0/8 | 15 | 4,9 \pm 0,3 ^a | 6,6 \pm 0,2 ^a | 8,3 \pm 0,2 ^A | 9,9 \pm 0,3 ^a | 10,6 \pm 0,2 | 60,9 \pm 3,3 | 93,3% (14/15) ^A |

^{abc} P<0,05 (Teste de Duncan - ANOVA PROC GLM, SAS[®])

^{ABC} P<0,05 (PROC GENMOD, SAS)

^{NS} (P>0,05) Não houve diferença significativa entre a homogeneidade das variâncias para a variável Momento da Ovulação (Teste de Bartlett)

Conforme ilustrado nas figuras 8 e 9, independentemente do tratamento, as ovulações predominaram em torno de 66 horas após a remoção dos dispositivos de P4 (54,8%; 17/31), sobretudo no tratamento D0/8 (64,3%; 9/14). Já nos tratamentos D6 e D8 a ocorrência de ovulações às 66h foi de 50% (6/12) e 40% (2/5), respectivamente.

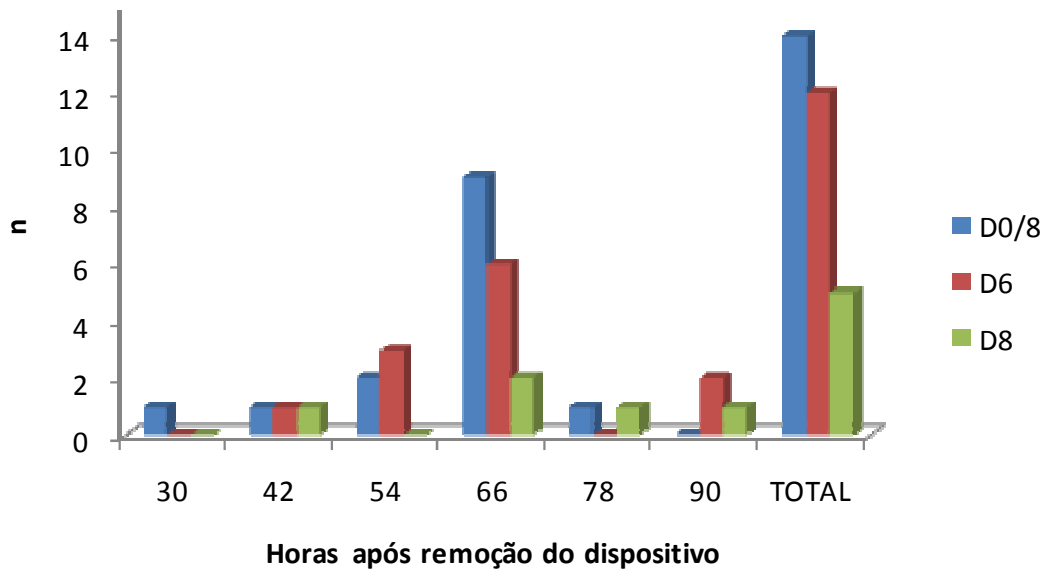


FIGURA 8. Distribuição das ovulações em horas após a remoção dos dispositivos intravaginais de progesterona em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes. Santa Inês – MA, 2011.

^{abc} $P < 0,05$ (Teste de Duncan- ANOVA PROC GLM, SAS®)

^{NS} ($P > 0,05$) Não houve diferença significativa entre a homogeneidade das variâncias para a variável Momento da Ovulação (Teste de Bartlett).

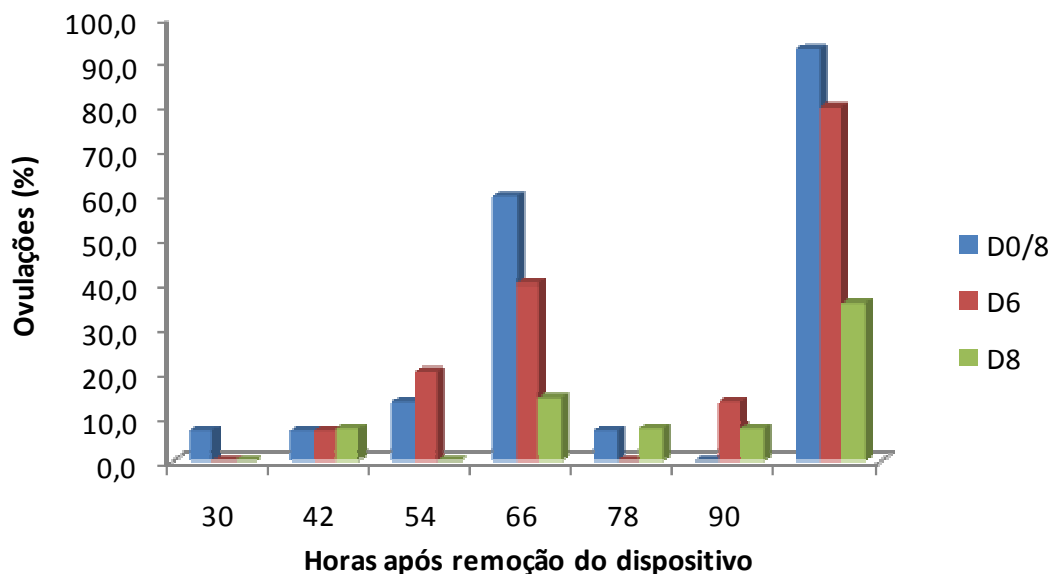


FIGURA 9. Distribuição das ovulações em porcentagem (%) após a remoção dos dispositivos intravaginais de progesterona em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes. Santa Inês – MA, 2011.

^{abc} $P < 0,05$ (Teste de Duncan - ANOVA PROC GLM, SAS®)

^{NS} ($P > 0,05$) Não houve diferença significativa entre a homogeneidade das variâncias para a variável momento da ovulação (Teste de Bartlett)

Conforme ilustrado na figura 10 avaliou-se as concentrações (ng/mL) séricas de progesterona antes da inserção do dispositivo intravaginal de P_4 , durante e após a remoção do dispositivo. No dia da inserção (D0) havia maior concentração de P_4 no tratamento D0/8 quando comparado aos tratamentos D6 e D8 ($P < 0,05$). Vale ressaltar, que a P_4 avaliada naquele momento é de origem endógena, ocasionada pela administração de 25mg de Dinoprost (IM; Lutalyse®, Pfizer, Brasil) em intervalos de 12 dias, não sendo resultante dos tratamentos experimentais.

Ainda na figura 10, foi verificado aumento nas concentrações séricas de progesterona nos tratamentos D6 e D8 após a inserção (D0) do dispositivo intravaginal de P_4 até o terceiro dia (D3) do protocolo, a partir do qual se observou decréscimo da P_4 entre os tratamentos. De modo contrastante, nos animais que receberam prostaglandina no dia zero (tratamento D0/8), a progesterona não se alterou significativamente após a inserção do dispositivo, decaindo somente a partir do terceiro dia, conforme observado nos demais tratamentos.

Apesar do decréscimo das concentrações de P₄ verificadas após a administração da prostaglandina (tratamento D6), este não foi significativo (P>0,05) quando comparado aos demais tratamentos (figura 10). Este decréscimo foi ainda menos notado no tratamento D8.

Após a remoção dos dispositivos, as concentrações de P₄ decaíram abaixo de 1ng/mL em todos os tratamentos. Já, no dia 22, as concentrações séricas de P₄ foram menores no tratamento D8 (P<0,05).

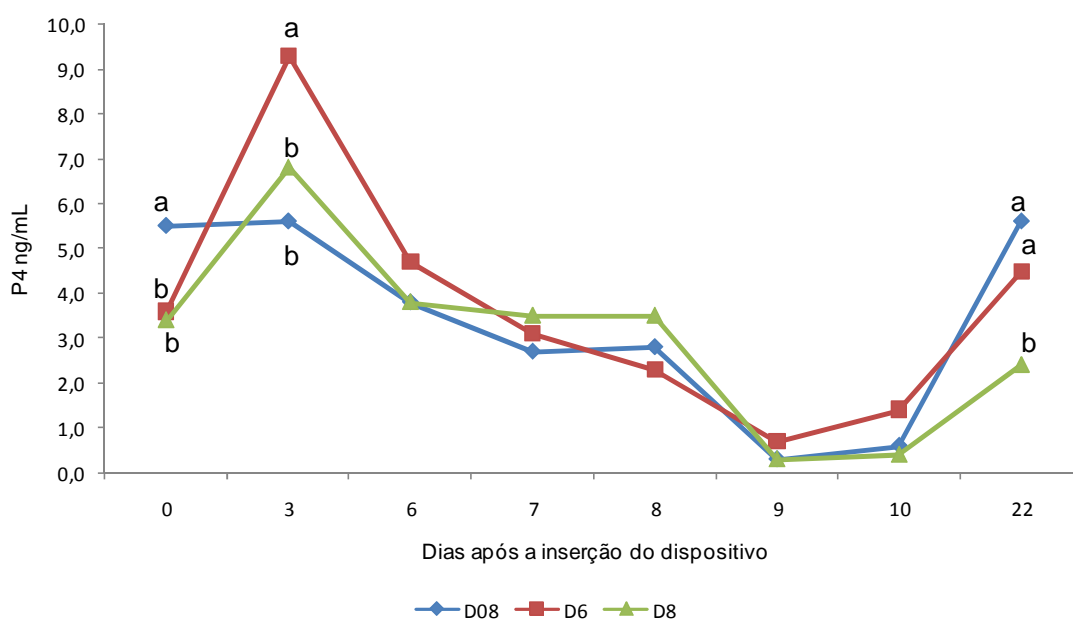


FIGURA 10. Concentração sérica de progesterona durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona associada à prostaglandina em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes. Santa Inês – MA, 2011.

^{abc} P<0,05 (Teste de Duncan - ANOVA PROC GLM, SAS®)

^{NS} (P>0,05) Não houve diferença significativa entre a homogeneidade das variâncias para a variável Momento da Ovulação (Teste de Bartlett)

Como ilustrado nas figuras 10 e 11, concentração de progesterona ao início do protocolo é inversamente proporcional ao crescimento folicular, tendo a PGF_{2α} beneficiado prioritariamente o tratamento D0/8.

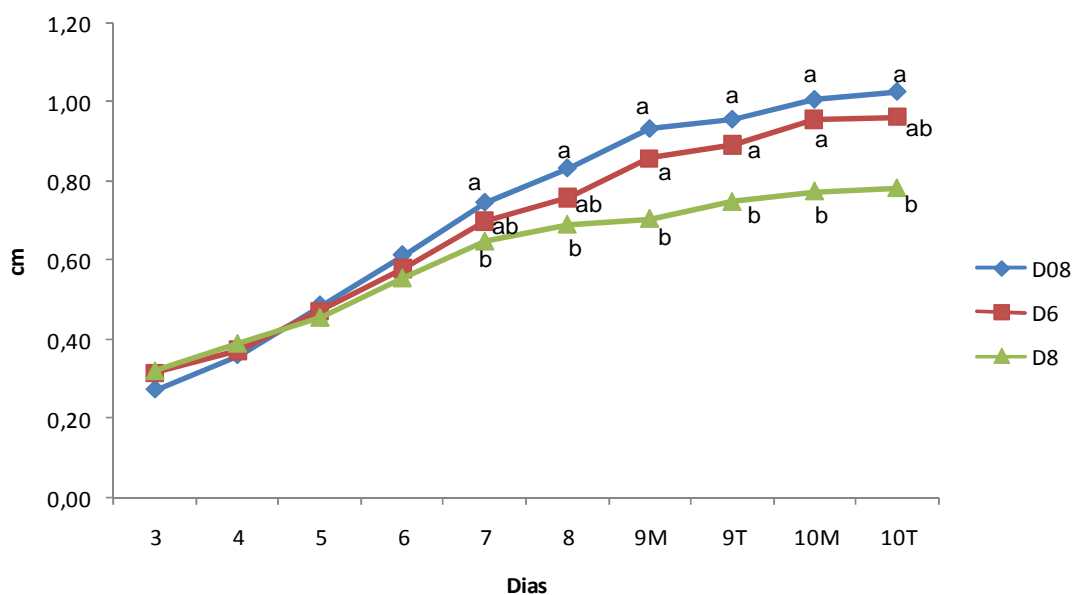


FIGURA 11. Dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona associada à prostaglandina. Santa Inês – MA, 2011.
^{abc} P<0,05 (Teste de Duncan - ANOVA PROC GLM, SAS®)

6.4 DISCUSSÃO

Os resultados apresentados confirmaram a hipótese inicial de que vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes são sensíveis a altas concentrações de P₄, devendo ser submetidas à luteólise precoce para potencializar o crescimento folicular e possibilitar maior taxa de ovulação no protocolo de IATF com uso do dispositivo intravaginal de progesterona novo.

No presente estudo não houve diferença significativa no momento da emergência da onda de crescimento folicular nos tratamentos hormonais D0/8 (3,3±0,1dias); D6 (3,2±0,1dias) e D8 (3,5±0,2dias). Assim como em nossa pesquisa, Carvalho et al. (2008) também não verificaram efeito significativo da aplicação de PGF no D0 em protocolos à base de estradiol mais progesterona, sobre a emergência da onda folicular em novilhas *Bos indicus* (3,2±0,2 vs. 3,1±0,2), *Bos indicus* x *Bos taurus* (3,4±0,2 vs. 3,2±0,1) e *Bos taurus* (3,3±0,2 vs. 3,2±0,1) para PGF vs. Sem PGF, respectivamente, nas mesmas condições de manejo. No entanto, a emergência da nova onda de crescimento folicular ocorreu mais precocemente em relação aos estudos de Bó et al. (1995a) que administraram solução injetável de 5mg de estradiol-17β (E-17β), associado ao implante de progestágeno, tendo encontrado emergência em 4,3±0,2 dias.

Moreno et al. (2001) também obtiveram emergência aos $4,0 \pm 0,2$ dias quando administraram de 2mg de BE + 50mg de P_4 , ambos administrados por via intramuscular na ocasião da inserção do dispositivo de progesterona.

Os ésteres de estradiol geralmente são absorvidos e metabolizados lentamente após administração intramuscular. A longa cadeia esterificada e a baixa solubilidades em água resultam em um longo intervalo necessário para o estradiol ser absorvido (COLAZO et al., 2005). Porém, de acordo com os resultados observados na literatura (CACCIA & BÓ, 1998; COLAZO et al., 2005), doses reduzidas de ésteres de estradiol são tão eficientes em promover uma emergência de onda mais cedo e mais sincronizada que a dose de 5 mg de 17- β -estradiol. Já Martinez et al. (2005) obtiveram variação significativa (2 a 6 dias) na emergência da onda folicular em vacas tratadas com 1 mg de BE um dia após a inserção do dispositivo CIDR[®].

Em nosso estudo a taxa de crescimento do FD foi significativamente maior no tratamento D0/8 ($1,1 \pm 0,1$ mm/dia; $P < 0,05$) entre a emergência da onda folicular e a remoção do dispositivo intravaginal de P_4 . A luteólise precoce induzida pelo tratamento com $PGF_{2\alpha}$ no momento da inserção do dispositivo possibilitou maior taxa de crescimento diária do FD nesse grupo. Segundo Cupp et al. (1993) vacas de corte ciclando com baixas concentrações endógenas de P_4 (1-2ng/mL) circulante têm melhor desenvolvimento folicular e consequentemente melhores taxas de ovulação. Elevadas concentrações de progesterona (5-6ng/mL) diminuem a pulsatilidade de LH e pode comprometer o crescimento folicular e a ovulação (BARUSELLI et al., 2007).

A luteólise precoce permitiu o desenvolvimento do FD do tratamento D0/8 em um ambiente com menores concentrações de progesterona, quando comparado aos tratamentos D6 e D8, isso favoreceu obter maior diâmetro do FD na remoção (D8) do dispositivo intravaginal de P_4 .

A taxa de crescimento (mm/dia) do FD da remoção (D8) do dispositivo intravaginal de P_4 à ovulação não diferiu entre os tratamentos. Este achado já era, de certo modo, esperado, visto que nesta ocasião do protocolo, todos os grupos já haviam sido submetidos ao agente luteolítico ($PGF_{2\alpha}$), apresentando decréscimo das concentrações de progesterona plasmática.

Na divergência folicular, tanto o diâmetro do folículo dominante (FD) quanto do maior folículo subordinado (FS) foram significativamente maiores no

tratamento D0/8 do que dos demais tratamentos. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por Sartorelli et al. (2005), Castilho et al. (2007) e Gimenes et al.(2008) que relatam o desvio folicular cerca de 2,5 a 3 dias após a emergência da onda. Segundo esses mesmo autores o diâmetro do folículo dominante encontrado no desvio folicular em *Bos indicus* foi de 6,2 a 8,4mm. Porém, Ginther et al. (1996) relataram cerca de 8,5mm para o Folículo dominante (FD) e 7,2mm para o folículo subordinado (FS) em *Bos taurus*.

O diâmetro máximo do FD não diferiu entre os tratamentos D0/8 e D6 ($9,9\pm 0,3\text{mm}$ vs. $9,7\pm 0,3\text{mm}$; $P>0,05$). Porém, ambos foram diferentes do tratamento D8 ($8,1\pm 0,7\text{mm}$; $P<0,05$). Carvalho (2004) estudando novilhas sincronizadas com dispositivo intravaginal de P_4 com PGF vs. sem PGF no dia zero, obteve diâmetro máximo do folículo dominante em novilhas *Bos indicus* ($10,1\pm 0,8\text{mm}$ vs. $9,0\pm 0,4\text{mm}$; $P>0,05$), *Bos indicus* x *Bos taurus*($12,7\pm 0,5\text{mm}$ vs. $11,9\pm 0,7\text{mm}$; $P>0,05$), *Bos taurus* ($12,9\pm 0,6\text{mm}$ vs. $10,6\pm 0,7\text{mm}$; $P<0,05$).

Informações sobre a relação entre o diâmetro folicular e a aquisição da capacidade ovulatória permitem entender eventuais falhas em tratamentos hormonais e podem facilitar o desenvolvimento de novos protocolos. Sartori et al. (2001), relataram em gado holandês a aquisição da capacidade ovulatória em folículos a partir de 10 mm de diâmetro. Já em novilhas Nelore, a divergência folicular ocorreu com diâmetros menores, tendo sido descrito que folículos a partir de 7,0 a 8,4 mm foram capazes de ovular (33%), e que a capacidade ovulatória aumentou proporcionalmente ao diâmetro folicular de 8,5 a 10mm (80%) e maiores que 10mm (90%) (GIMENES et al., 2007).

Em nosso estudo não houve diferença significativa no diâmetro máximo do folículo ovulatório entre os tratamentos D0/8 ($10,6\pm 0,2\text{mm}$), D6 ($10,4\pm 0,4\text{mm}$) e D8 ($11,4\pm 0,8\text{mm}$), respectivamente. Entretanto, Carvalho et al. (2008) verificaram efeito significativo da aplicação de PGF no D0 em protocolos à base de estradiol/progesterona, sobre o diâmetro máximo do folículo ovulatório e concluíram que novilhas *Bos indicus* apresentaram folículo ovulatório de menor diâmetro ($11,5\pm 0,2$ vs. $10,1\pm 0,6\text{mm}$; $P<0,05$) do que as novilhas *B. indicus* x *Bos Taurus* ($13,0\pm 0,4$ vs. $12,6\pm 0,8\text{mm}$) e *Bos Taurus* ($12,9\pm 0,6$ vs. $11,1\pm 0,9\text{mm}$) para PGF vs. Sem PGF, respectivamente, nas mesmas condições de manejo.

A taxa de ovulação foi 13,3% maior no tratamento D0/8 quando comparado ao D6 [93,3 vs. 80,0%; respectivamente ($P>0,05$)]. Já, ambos, diferiram significativamente do D8 (35,7%; $P<0,05$). Bergfeld et al. (1995) observaram que a administração de um agente luteolítico dias antes da remoção do dispositivo de progesterona, diminui os níveis plasmáticos da mesma, possibilitando maior crescimento folicular e taxa de ovulação em animais cíclicos. Altas concentrações de progesterona prejudicam o pico de LH e a taxa de crescimento do folículo dominante. Isso explicaria parcialmente a baixa taxa de ovulação no tratamento D8 encontrada em nosso estudo.

Em contribuição a esta interpretação, Rahe et al. (1980) também relataram baixa pulsatilidade de LH quando as concentrações plasmáticas de progesterona estão elevadas (entre 5 e 8 ng/mL). Inversamente, a diminuição da concentração circulante de progesterona para valores subluteais aumenta a pulsatilidade de LH e favorece o crescimento do folículo dominante (SÁVIO et al., 1993), o que corrobora também com os dados obtidos por Stock e Fortune (1993). Estas observações dão suporte a outros estudos, nos quais se verificou que elevada concentração de progesterona plasmática diminui a capacidade ovulatória do folículo dominante (COLAZO et al., 2008).

Resultados similares foram relatados por Peres et al. (2009) que observaram uma tendência de redução nas taxas de ovulação quanto maior a concentração de progesterona no momento da retirada do dispositivo. Carvalho et al. (2008) também obtiveram menor taxa de ovulação quando a progesterona estava elevada. Os autores sugerem que esta condição pode aumentar a ocorrência de folículos de menores diâmetros no momento da retirada do dispositivo.

As concentrações (ng/mL) séricas de P_4 encontradas no momento da inserção (dia zero; D0) do dispositivo intravaginal de P_4 eram de origem endógena. Já as concentrações encontradas no D3 comprovam a sensibilidade do ensaio tanto para a progesterona endógena quanto exógena, mostrando sempre maiores concentrações nos animais não tratados com prostaglandina no dia zero (D0).

De acordo com Adams (1994) após a inserção do dispositivo as concentrações de P_4 no plasma são altamente previsíveis, com valores médios no plasma em torno de 5-6ng/mL, justificando os dados encontrados no

presente experimento. Pimentel (2006) avaliou a liberação de progesterona por dispositivos intravaginais durante 16 dias em fêmeas bovinas ovariectomizadas, verificando diminuição gradual na concentração plasmática de progesterona: 2 horas após a inserção do dispositivo = 9,82ng/mL, 8 dias após = 2,44ng/mL e 16 dias após = 1,56ng/mL.

Macmillan et al. (1991) relataram que novilhas também ovariectomizadas tratadas com o dispositivo por 12 dias apresentaram uma concentração plasmática de P_4 média de $5,6 \pm 0,1$ ng/mL. Os valores médios diários variaram de $8,7 \pm 0,3$ ng/mL (6 horas após a inserção) a $2,5 \pm 0,3$ ng/mL (retirada do dispositivo). Esses achados dão suporte aos resultados de nosso estudo, o qual resultou em menor taxa de ovulação quando a $PGF_{2\alpha}$ foi administrada apenas na remoção do dispositivo intravaginal de P_4 (tratamento D8).

Vários estudos têm demonstrado a capacidade da $PGF_{2\alpha}$ e seus análogos sintéticos, α -prostol (JOCHLE et al., 1982), cloprostenol (COOPER, 1974) e luprostiol (GODFREY et al., 1989) em promover a regressão do corpo lúteo. Porém, a luteólise somente é efetiva em vacas que estão no diestro, entre o 6° e 17° dias do ciclo estral. A administração de $PGF_{2\alpha}$ em vacas com corpo lúteo funcional provoca luteólise em pelo menos 90% dos animais tratados e os sinais de estro ocorrem entre o 2° e 6° dia após o tratamento. A luteólise induzida pela administração de $PGF_{2\alpha}$ promove redução significativa na concentração plasmática de progesterona nas primeiras 24 horas após o tratamento, atingindo valores inferiores a 1ng/mL (VIANA et al., 1999). No tratamento D0/8 do presente estudo, as concentrações de progesterona se mantiveram lineares nas primeiras 72h, não havendo aumento por associação endógena/exógena, o que configura efetividade luteolítica da $PGF_{2\alpha}$ e manutenção exclusivamente exógena.

6.5 CONCLUSÃO

A luteólise precoce potencializa o crescimento folicular e a ovulação em protocolos de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore cíclicas não lactantes.

7 EXPERIMENTO 3 – Efeito da prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) na taxa de concepção em vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes submetidas à inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

7.1 HIPÓTESE

Vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes são sensíveis a altas concentrações de progesterona (P_4) exógena, devendo ser submetidas à luteólise precoce para potencializar o crescimento folicular, possibilitando maiores taxas de ovulação e concepção no protocolo de IATF.

Para testar as hipóteses levantadas na conclusão do experimento 2, em relação à taxa de concepção, foi delineado o experimento 3, cuja metodologia encontra-se descrita adiante.

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Local e animais experimentais

A localização, as condições de manejo e a metodologia adotada para classificação do escore de condição corporal (ECC) foram às mesmas já descritas anteriormente nos subitens 5.2.1 e 5.2.2.

7.2.2 Delineamento experimental

A metodologia adotada para a aplicação dos protocolos e execução dos tratamentos D8, D6 e D0/8 foram as mesmas já descrita anteriormente no subitem 6.2.2 do experimento 2.

Nesta etapa foram utilizadas 342 vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes distribuídas homogeneamente em um dos três tratamentos hormonais (D0/8, D6 e D8). As IATF's foram realizadas no dia dez (D10) entre 48 e 52 horas após a remoção do dispositivo intravaginal de P_4 .

7.2.3 Avaliação do *status* ovariano

Foram avaliadas aleatoriamente através de exames ultrasonográficos (US) 20% das vacas Nelore (*Bos indicus*), verificando-se atividade ovariana cíclica (presença de corpo lúteo) em 99% (99/100) delas. Este percentual encontrado foi determinante para a caracterização dos animais experimentais como vacas cíclicas.

7.2.4 Análises estatísticas

As taxas de ovulação/concepção foram analisadas como distribuição binomial por meio da função LOGIT do aplicativo PROC GENMOD do SAS[®]. O nível de significância adotado para rejeitar H₀ (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05 ($p < 0,05$) foi considerado efeito das variáveis classificatórias e das suas interações. As variáveis classificatórias consideradas no modelo estatístico para verificação dos efeitos e interações foram: tratamento, escore de condição corporal, sêmen, inseminador e animal.

7.3 RESULTADOS

Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) entre as taxas de concepção de vacas Nelore submetidas aos tratamentos D0/8, D6 ou D8 (figura 12).

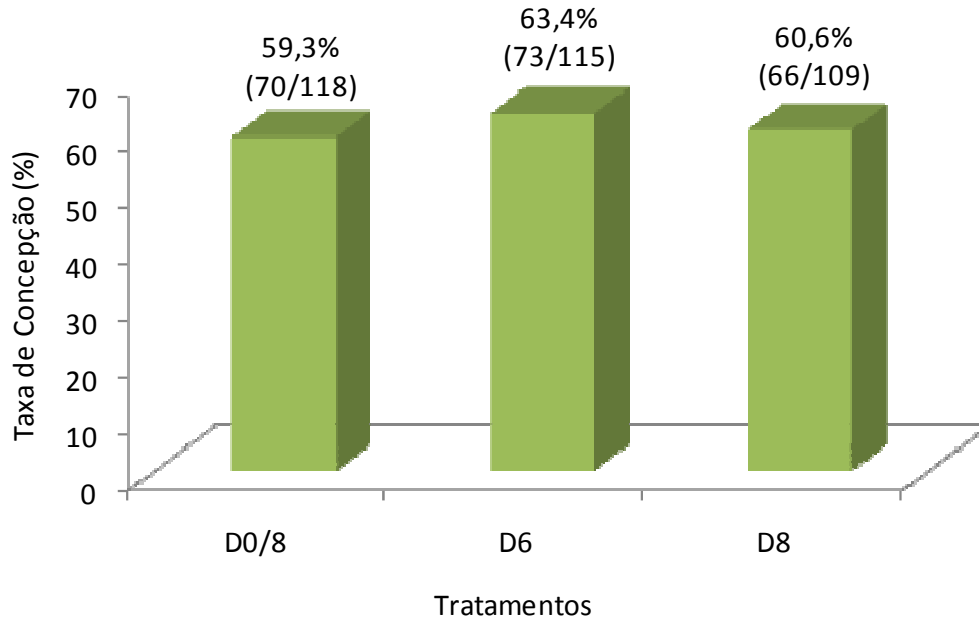


FIGURA 12. Efeito da prostaglandina na taxa de concepção de vacas Nelore (*Bos indicus*) cíclicas não lactantes submetidas à IATF, Parnarama – MA, 2011. $P > 0,05$ (PROC GENMOD, SAS®)

7.4 DISCUSSÃO

A análise das taxas de concepção do experimento 3 não confirmou a hipótese levantada no experimento 2. A relação entre elevadas concentrações plasmáticas de progesterona circulante e a redução na pulsatilidade e/ou pico de LH está bem documentada na literatura científica (BERGFELD et al., 1995; BARUSELLI et al., 2007; CARVALHO et al., 2008; COLAZO et al., 2008; PERES et al., 2009) e pode comprometer o crescimento folicular e a taxa de ovulação/concepção. Sabe-se que vacas Nelore não lactantes com bom escore de condição corporal apresentam alta taxa de ciclicidade. De acordo com Baruselli et al. (2004) e Pereira (2010) a concentração de progesterona endógena proveniente do CL somada com a exógena do dispositivo intravaginal (CIDR® 1,9g P₄) promoveu redução na taxa de ovulação e prenhez. Por outro lado, Melo et al. (2011) ressaltaram que fêmeas zebuínas apresentam alto grau de anestro, sobretudo primíparas, antes dos 60 dias pós-parto, o que provavelmente não justifica a administração antecipada ou adicional de PGF_{2α} para luteólise precoce.

Em contribuição a estas interpretações, a administração de um agente luteolítico dias antes da remoção do dispositivo intravaginal em vacas cíclicas diminuiria os níveis plasmáticos de progesterona endógena, possibilitando maior taxa de crescimento folicular e ovulação em animais cíclicos (BERGFELD et al. 1995; CARVALHO et al., 2008; CUPP et al., 1993).

Peres (2008) realizaram um experimento com vacas Nelore lactantes cíclicas tratadas com CIDR[®] (1,9 de P₄) associado a 2mg de benzoato de estradiol no D0. Os animais foram avaliados no D7 quanto à presença de CL, sendo divididos para receber PGF_{2α} no D7 ou no D9 (remoção do dispositivo), concluindo novamente que a alta concentração de progesterona no dia da remoção do dispositivo reduziu a taxa de prenhez.

Em nosso experimento foram observadas menores concentrações de P₄, além de maior crescimento folicular e taxa de ovulação quando a luteólise foi precoce (Experimento 2). Entretanto, as taxas de concepção (experimento 3) foram similares (P>0,05), não corroborando com as pesquisas anteriormente citadas.

De fato, a função ovariana é influenciada por diversos fatores, como clima, raça, nutrição e manejo (MARTINS et al., 2005). Neste experimento, o fato da antecipação da prostaglandina/luteólise não ter consolidado a hipótese experimental e não ter aumentado o número de prenhezes, pode estar associado ao “*status*” nutricional das vacas Nelore cíclicas não lactantes ou mesmo ao fato de se ter administrado a eCG na ocasião da remoção dos dispositivos. Nas condições em que o experimento 3 foi executado, (terço inicial do período chuvoso), a alta ingestão de matéria seca (IMS) e o balanço energético positivo, provavelmente ocasionaram uma maior metabolização entero-hepática dos hormônios esteróides, o que pode ter reduzido a biodisponibilidade da progesterona e estradiol na circulação. Esta interpretação não se adequa inteiramente ao experimento 2, pois é sabido que em trabalhos de dinâmica folicular, o manejo de curral é diário e intenso, ocasionado invariavelmente uma diminuição da IMS, diminuindo assim, o metabolismo hepático.

Sabe-se que os mecanismos responsáveis pelo efeito da alimentação sobre a função ovariana podem ser diversos. Dentre eles, acredita-se que o consumo elevado de energia ou alta IMS estejam altamente

envolvidos. Estima-se que o aumento da IMS cause um aumento do fluxo sanguíneo para o fígado (SYMONDS & PRIME, 1989; PARR et al., 1993b; MILLER et al., 1999; SANGSRITAVONG et al., 2002) onde há uma grande metabolização dos hormônios esteróides P_4 e E_2 (PARR et al., 1993a; WILTBANK et al., 2000; SANGSRITAVONG et al., 2002; VASCONCELOS et al., 2003). Conseqüentemente, quanto maior a IMS, menores concentrações sanguíneas circulantes desses hormônios são observadas. McEvoy et al. (1995) relataram também que animais em dieta *ad libitum* apresentaram concentrações plasmáticas de P_4 significativamente mais baixas em comparação àqueles sob dieta restrita.

Caso a hipótese de alta metabolização da P_4 exógena/endógena seja aplicável aos nossos resultados, este efeito atuou em ambos os tratamentos, reduzindo para níveis não supressivos a P_4 . Assim, o LH endógeno pôde atuar em ambos os tratamentos, fazendo com que as taxas de ovulação/concepção fossem similares ($P > 0,05$).

Em relação à administração da eCG, sabe-se que esta, quando administrada no momento da remoção do dispositivo de progesterona/progestágeno, confere suporte adicional de LH, aumentando sua frequência e amplitude de liberação por até 72 horas (MURPHY & MARTINUK, 1991). Estes efeitos têm se mostrado significativos, sobretudo em animais com déficit de gonadotrofinas endógenas, potencializando a resposta ovulatória e aumentando a eficiência dos protocolos de IATF (BARUSELLI et al., 2004b; DIAS et al., 2009; MARQUES et al., 2005; MENEGHETTI & MIGUEL, 2008; SALES et al., 2011).

De maneira geral, independente do tamanho do folículo dominante no dia da remoção do dispositivo, a administração de eCG induz à altas taxas de crescimento final (SALES et al., 2011). Complementando este raciocínio, é importante ressaltar que em nenhuma das pesquisas anteriormente citadas, nas quais há demonstração dos efeitos da luteólise precoce, foi usada a eCG (CARVALHO et al., 2008).

Nos resultados aqui apresentados, independente dos tratamentos, observou-se taxa de concepção acima da média nacional que, segundo Baruselli (2009), oscila entre 45 e 55%. Em nosso experimento, estima-se que a taxa de ovulação geral também tenha sido alta e, mesmo que esta não tenha

ocorrido de forma sincrônica entre os tratamentos, sua eventual assincronia poderia ser compensada pela longa sobrevivência do sêmen utilizado, desde que não fosse ultrapassado um intervalo interovulatório de 36 horas. Segundo Anderson et. al., (2004), os espermatozoides bovinos podem manter a viabilidade pós-descongelamento por até 36 horas, estando relacionada principalmente ao volume e a concentração espermática.

Esses dados vêm contribuir e reforçar a hipótese do alto metabolismo dos hormônios esteróides em fêmeas de corte não lactantes e sua função no controle supressivo dos níveis de progesterona circulante, tanto de origem exógena (dispositivo intravaginal), quanto endógena (corpo lúteo). Deste modo, novas investigações para determinar a cinética hormonal em fêmeas zebuínas cíclicas durante protocolos para IATF, se fazem necessárias.

7.5 CONCLUSÃO

A luteólise precoce não aumentou a taxa de concepção à IATF em vacas Nelore cíclicas não lactantes sincronizadas com estrógeno, dispositivo intravaginal de progesterona e eCG.

8 SUMÁRIO DE RESULTADOS

- Vacas Nelore lactantes entre 50 e 70 dias pós-parto podem ser inseminadas em tempo fixo utilizando dispositivo intravaginal de progesterona novo ou previamente utilizado por oito dias;
- Vacas Nelore cíclicas não lactantes tiveram maior taxa de concepção quando sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona previamente utilizado por oito dias;
- A luteólise precoce reduziu as concentrações endógenas de progesterona, possibilitando maior crescimento folicular e consequente maior taxa de ovulação em vacas Nelore cíclicas sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo;
- A luteólise precoce não aumentou a taxa de concepção à IATF em vacas Nelore cíclicas sincronizadas com estrógeno, dispositivo intravaginal de progesterona e eCG.

9 CONCLUSÃO

A diminuição dos níveis sanguíneos de progesterona exógena/endógena durante o protocolo de sincronização potencializa o crescimento folicular e a ovulação, podendo ser uma alternativa para otimizar os resultados de IATF, apesar de, no experimento 3, não ter aumentado a taxa de concepção.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, T. J.; MIYAMOTO, A. Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, 2004, Porto Seguro. **Proceedings...** Porto Seguro. Animal Reproduction Science, 2004, v. 82-83, p. 127-140.
- ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Reproduction**, v.96, p.627-40, 1992.
- ADAMS, G. P. Control of ovarian follicle wave dynamics in cattle: Implications for synchronizaton and superestimulation. **Theriogenology**, v.41, p.19-24, 1994.
- ADEYEMO, O.; HEATH, E. Plasma progesterone concentration in Bos Taurus and Bos indicus heifers. **Theriogenology**, v.14, n.6, p.411-420, 1980.
- ANDERSON, M.; TAPONEN, J.; KOSKINEN, E.; DA HLBOM, M. Effect of insemination with doses of 2 or 15 milion frozen-thawed spermatozoa and semen deposition site on pregnancy rate in dairy cows. **Theriogenology**, v.61, p.1583-1588, 2004.
- ALMEIDA, A. B.; BERTAN, C. M.; ROSSA, L. A. F.; GARPAR, P. S.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H.; Avaliação da reutilização de implantes auriculares contendo norgestomet associados ao valerato ou benzoato de estradiol em vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 43, n. 4, p. 456- 465, 2006.
- ALVES, N. G; COSTA, E. P; GUIMARÃES, J. D. et al. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça holandesa e mestiças Holandês x Zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.627-634, 2002.
- AUSTIN, E. J.; MIHM, M.; RYAN, M. P.; WILLIAMS, D. H.; ROCHE, J. F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal Animal Science**, Fargo, v.77. p.2219-2226, 2002.
- AYRES, H.; PENTEADO, L.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.410, 2006.
- AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M.; MELLO, J. E.; DOMINGUEZ, J. H.; SOUZA, A. H.; VALENTIN, R.; SANTOS, I. C. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v.109, p.77-87, 2008.

BADINGA, L.; THATCHER, W. W.; WILCOX, C. J. et al. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol 17-beta, progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, v.42, p.1263-1274, 1994.

BAIRD, D. T. Luteotropic control of the corpus luteum. **Animal Reproduction Science**, v.28, p.95-102, 1992.

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

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O. Programas de inseminación artificial a tempo fijo en *Bos indicus*. Primeira parte. **Taurus**, v. 12, p. 15–25, 2001.

BARNETT, K. R.; SSHILLING, C. C. R.; GREENFELD, C. R.; TOMIC, D.; FLAWS, J. A. Ovarian follicle development and transgenic mouse models. **Human Reproduction**, v.10, p.1-19, 2006.

BARUSELLI, P. S. **Manual prático de inseminação artificial em tempo fixo**. Biogênese Brasil. Curitiba: Idealgraf, 2004, 54 p.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004a.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; CARVALHO, N.A.T.; CARVALHO, J.B.P. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing derive. In: **International Congress on Animal Reproduction**, 2004b.

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MARQUES, M. O.; PENTEADO, L.; BÓ, G. A. Aplicação integrada de programas de controle da ovulação e manejo reprodutivo em bovinos de corte criados em condições extensivas. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL,7., Córdoba. **Anais...** Córdoba: IRAC – Instituto de Reproducción Animal, 2007. v.1, p.55-79.

BARUSELLI, P. S. Novas tecnologias estão disponíveis e podem surpreender criadores com sêmen sexado e IATF. **AG**, edição 132, 2009. Disponível em: <http://www.rggenetica.com.br/informativos/artigos/8-inseminacao-impulso-na-inseminacao>. Acesso em: 10 de mai 2012.

BASTOS, G. M.; GONÇALVES, P. B. D.; NEVES, J. P. et al. Indução Hormonal da Ovulação e Desmame Precoce na Fertilidade Pós-Parto de Vacas de Corte Homozigotas e Heterozigotas para o Microssatélite BMS30041. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, p.1093-1103, 2003

BERGFELT, D. R.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Continued periodic emergence of follicular waves in non-bred progesterone-treated heifers. **Animal Reproduction Science**, v.24, p.193-204, 1991.

BERGFELD, E.G.M. et al. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17β - oestradiol concentration in cows is related to concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source. **Animal Reproduction Science**, v.37, n.3, p.257-265, 1995.

BERISHA, B.; SCHAMS, D.; KOSMANN, M.; AMSELGRUBER, W.; EINSPANIER, R. Expression and tissue concentration of vascular endothelial growth factor, its receptors, and localization in the bovine corpus luteum during estrous cycle and pregnancy. **Biology of Reproduction**, v.63, p.1106-1114, 2000.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. In: MADUREIRA E. H.; BARUSELLI, P. S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, São Paulo, FUNVET, 2000, p. 99-114.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1451-1463, 2001.

BO, G. A.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. **Theriogenology**, v.36, p.169–183, 1991

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; MARTÍNEZ, M.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and oestradiol in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204, 1995a.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergency in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.31-40, 1995b.

BÓ, G. A. L.; CUTAIA, L. Estado del en IATF: factores que afectan SUS resultados. **Resúmenes de estudios de reproducción animal**. Instituto de reproducción animal Córdoba (IRAC), Universidad Católica de Córdoba, Agencia Córdoba Ciencia. 18 p. 1998.

BÓ, G. A.; BERGFELT, D. R.; BROGLIATTI, G. M.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17b on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. **Animal Reproduction Science**, v.59, p.141–157, 2000.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; TRÍBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas

experiencias realizadas na Argentina. Primeira parte. **Taurus**, v.14, p.10-21, 2002.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307–326, 2003.

BURKE, C. R.; MUSSARD, C. L.; GASSER, D. E. et al. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dosedependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, v.60, p.647, 2003.

CALLEJAS, S. S. Fisiología del ciclo estral bovino. In: Palma, G. A. **Biotecnología de la reproducción**. Mar del Plata: Reprobiootec, 2001. p.37-49.

CALLEJAS, S.; CABODEVILA, J.; ALBERIO, R.; DORAY, J.; CATALANO, R.; TERUEL, M.; PEREZ-ZANGARI, G. Estudio del efecto luteolítico de uma dosis reducida de cloprostenol, benzoato de estadiol y la combinación de ambos. **Revista Argentina de Producción Animal**, v.15, n.3-4, p.1024-1025, 1995.

CAMPBELL, B. K.; SCARAMUZZI, R. J.; WEBB, R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.49, p.335-350, 1995.

CARDOVA, S. A.; JIMENEZ, F. K.; VILLA-GODOY, A. Intravulvosubmucosal injections of Lupristol may reach corpora lutea by a local unilateral pathway in cattle. **Theriogenology**, v.33, p.207, 1990.

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

CARVALHO, J.B.P. **Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus***. 2004. 122 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

CASSAR, C. A.; DOW, M. P. D.; PURSLEY, J. R.; SMITH, G. W. Effect of the prevulatory LH surge on bovine follicular progesterone receptor mRNA expression. **Domestic Animal Endocrinology**, v.22, p.179-187, 2002.

CACCIA, M.; BÓ, G. A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef heifers with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, p.34, 1998 (abstract).

CASTRO JÚNIOR, J. D.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; BARUSELLI, P. S. Efeito do tratamento com diferentes indutores da ovulação (cipionato e benzoato de estradiol) e do momento da

inseminação artificial (48 e 54h após a retirada do implante de norgestomet) na taxa de prenhez de vacas nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, p.617, 2008.

CASTILHO, C.; GARCIA, J. M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G. P.; BRITO, L. F. C. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos Indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.98, p.189-196, 2007.

CAVALIERI, J.; RUBUI, I.; KINDER, J. E.; ENTWISTLELS, K. W.; FITZPATRICK, A. L. A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.47, p.801-814, 1997.

CLARKE, J. J. GnRH secretion. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5, 1988. **Anais** Dublin. 1988. p.1-9.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixedtime AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, p.855-865, 2003.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MARTINEZ, M. F.; WHITTAKER, P. R.; WILDE, R. Fertility following fixedtime AI in CIDR treated beef heifers given GnRH or estradiol Cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. **Theriogenology**, v.15, n.61, p.1115-1124, 2004.

COLAZO, M. G.; MARTÍNEZ, M. F.; SMALL, J. A.; KASTELIC, J. P.; BURNLEY, C. A.; WARD, D.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. **Theriogenology**, v.63, p.1454-1468, 2005

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; DAVIS, H.; RUTLEDGE, M. D.; MARTINEZ, M. F.; SMALL, J. A.; MAPLETOFT, R. J. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, p.109–117, 2008.

COOPER, M. J. Cloprostenol as a tool in the management of dairy cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica** v.77, p.171-179, 1981. Suplemento.

COOPER, M. J.; FURR, B. J. Control of oestrus cycle of heifers with synthetic prostaglandin analogue. **Veterinary Record**, v.94, p.61, 1974.

COSTA, D. S.; HENRY, M.; WHITE, C. R. Sincronização de cio em vacas zebu com etiproston. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v.20, n.117, p.23-25, 2000.

CREPALDI, G. A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade

de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

CUPP, A. S.; ROBENSON, M.S.; STUMPF, T. T.; WOLFE, M. W.; WERTH, L. A.; KOJIMA, N.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Yearling bulls shorten the duration of postpartum anestrus in beef cows to the same extent as do mature bulls. **Journal of Animal Science**, v.71, p.306-309, 1993.

CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; ALISIO, L.; TEGLI, J.; MORENO, D.; BO, GA.; Efecto de los Tratamientos con Dispositivos DIV-B Nuevos o Reutilizados en los Índices de Preñez en Vacas y Vaquillonas Inseminadas a Tiempo Fijo (IATF). In: 4° SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL. Huerta Grande, Córdoba 2001. **Resúmenes...** Argentina. 2001.

CUTAIA, L. et al Nuevos avances em programas de sincronización de celos em vaquillonas inseminadas a tempo fixo. In: JORNADA DE ACTUALIZACION EM BIOTECNOLOGIAS DE LA REPRODUCCION EM BOVINOS. IRAC, Córdoba. **Anales...** Argentina, 2006, p.1-8.

DAMBER, J. E.; CAJANDER, S.; GAFVELS, M.; SELSTAM, G. Blood flow changes and vascular appearance in preovulatory follicles and corpora lutea in immature pregnant mare's serum gonadotropin-treated rats. **Biology of Reproduction**, v.37, p.651-658, 1987.

DAVIS, J. S.; RUEDA, B. R. Recent advancements in corpus luteum development, function, maintenance and regression: forum introduction. **Biology and Endocrinology**, v.1, n.86, p.1, 2003.

DAY, M. L. Efeito de estratégias de sincronização da ovulação no desenvolvimento folicular e na concepção. In: Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos, 9, 2005, Botucatu: **CONAPEC Jr**, 2005. CD-ROOM.

DE SILVA, A. W. M. V.; ANDERSON, G. W.; GWAZDAUSKAS, F. C.; MCGILLIARD, M. L.; LINEWEAVER, J. A. Correlations with estrous behavior and conception in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.64, p.2409-2418, 1981.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F2a treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v.72, p.378-385, 2009.

DIELEMAN, S. J.; BEVERS, M. M.; VAN TOL, H. T. M. & WILLEMSE, A. H. Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrous cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrous period. **Animal Reproduction Science**, v.10, p.275-292, 1986.

DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.211-288, 2002.

DONG, J.; ALBERTINI, D. F.; NISHIMORI, K.; KUMAR, T. R.; LU, N.; MATZUK, M. M. Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. **Nature**, v.383, p.531-535, 1996.

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239, 2001.

DRUMMOND, A. E. The role of steroids in follicular growth. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.4, p.1-11, 2006.

DUTT, T.; KHARCHE, S. D.; ANSARI, M. R.; TANEJA, V.; K. Superovulation with follitropin, estrus synchronization/induction using intravulvo-submucosal administration of lupristol and embryo transfer in crossbred cows. **Indian Journal of Animal Sciences**, v.65, p.990-992, 1995.

ELIASSON, R. The origem of male prostaglandins. **Acta Physiologica Scandinavica**, v.46, suppl.158, p.1-73, 1959.

ERENO, R. L. **Avaliação da taxa de prenhez em novilhas tratadas com protocolo GnRH-PGF2 α -Benzoato de estradiol (GPE) e em vacas submetidas à tratamentos hormonais com progesterona associados ou não a remoção temporária de bezerros.** 2003. 73p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita, Botucatu, 2003.

FERNANDES, C. A. C.; TORRES, C. A. A.; COSTA, E. P. Comparação entre doses e vias de aplicação de cloprostenol para sincronização de estro em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.18, p.105-109, 1994.

FERREIRA S. A.; VANE, J. R. Prostaglandins: their disappearance from and release into the circulation. **Nature**, v.216, p.868-873, 1967.

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

FIGUEIREDO, J. R.; HULSHOF, S. C. J.; BECKERS, J. F. Nova biotecnologia: isolamento, caracterização e cultura de folículos ovarianos pré-antrais em bovinos. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA DA REPRODUÇÃO DE MAMÍFEROS DOMÉSTICOS, 1995, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 1995. p.1-11.

FIGUEIREDO, J. R.; RODRIGUES, A. P. R.; AMORIM, C. A.; SILVA, J. R. V. Manipulação de oócitos inclusos em folículos ovarianos pré-antrais – MOIFOPA. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F.

Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo: Roca, 2008. p.303-327.

FIKE, K.E.; KOJIMA, F.N.; LINDSEY, B.R.; BERGFELD, E.G.M.; QUINTAL-FRANCO, J.A.; MELVIN, E.J.; ZANELLA, E.L.; WEHRMAN, M.E.; KINDER, J.E. Regulation of frequency of luteinizing hormone pulses by magnitude of acute change in circulating concentration of progesterone of female cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 84, p. 279–291, 2004.

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

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; EVANS, A. C. O.; TURZILLO, A. M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v.65, p.648-654, 2001.

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

GALLOWAY, S. M.; MCNATTY, K. P.; CAMBRIDGE, L. M.; RITVOS, O. Mutation in an oocyte derived growth factor gene (BMP-15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner. **Nature Genetics**, v.25, p.279-283, 2000.

GINTHER, O. J. Influence of progesterone and number of corpora lutea on ovaries in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v.32, p.1987–1992, 1971.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 1989.

GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; GIBBONS, J. R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.

GINTHER, O. J.; KOT, K.; KULLICK, L. J.; WILTBANK, M. C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v.48, p.75-87,1997.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: role of luteinizing hormone. **Biology of Reproduction**, v.64, p.197-205, 2001.

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

GIMENES, L. U.; CARVALHO, N. A. T.; SÁ FILHO, M. F.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; AYRES, H.; VANNUCI, F. S.; BIANCONI, L. L.; BISINOTO, R. R.; REICHERT, R. H.; BELTRAN, M. P.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Follicle selection by ultrasonography and plasmatic characteristics and ovulatory capacity in Buffaloes. **Italian Journal of Animal Science**, v.6, p.629-631, 2007.

GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; MADUREIRA, E. H.; TRINCA, L. A.; SARTORELLI, E. S.; BARROS, C. M.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 852-858, 2008.

GODFREY, R. W.; GUTHRIE, M. J.; NEUENDORFF, D. A.; RANDEL, R. Evaluation of luteolysis and estrous synchronization by a prostaglandin analog (luprostiol) in brahman cows and heifers. **Journal of Animal Science**.v.67, p.2067-2074, 1989

GONG, J. G.; CAMPBELL, B. K.; BRAMLEY, T. A.; GUTIERREZ, C. G.; PETERS, A. R.; WEBB, R. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. **Biology of Reproduction**, v.55, p.68-74, 1996.

GOODMAN, R. L.; KARSCH, F. J. Pulsatile secretion luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. **Endocrinology**, v.107, p.1286-90, 1980.

GORDON, I. Controlled breeding in cattle. Part 1. Hormone in the regulation of reproduction, oestrus, control, and set time artificial insemination. **Animal Breeding**, v.44, p.265-275, 1976.

GRAVES-HOAGLAND, R. L.; HOAGLAND, T. A.; WOODY, C. O. Relationship of plasma β - carotene and vitamin A to luteal function in postpartum cattle. **Journal Dairy Science**, v.72, p.1854-1858, 1989.

GUTIERREZ, C. G.; RALPH, J.H.; TELFER, E. E.; WILMUT, I.; WEBB, R. Growth and antrum formation of bovine pré-antral follicles in long-term culture in vitro. **Biology of Reproduction**, v.62, p.1322-1328, 2000.

HAFEZ, E. S. E. **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo: Manole, 1995. p.582.

HAFEZ, E. S. E., HAFEZ, B. Folliculogenesis, Egg maturation and Ovulation. In: HAFEZ, E. S. E., HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7th Ed. Philadelphia: Lippincott, 2000. p.68-81.

HAFEZ, E. S. E.; JAINUDEEN, M. R.; ROSNINA, Y. Hormones, growth factors and reproduction. In: HAFEZ, E. S. E., HAFEZ, B. **Reproduction in Farm Animals**. 7th Ed. Philadelphia: Lippincott, 2000. p.33-54.

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. Ciclos Reprodutivos. In: HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7. Ed Manole, 2004. cap.4, p.55-67.

HANSEL, W., CONVEY, E. M. Physiology of the estrus cycle. **Journal of Animal Science**, v.57, p.404-24, 1983.

HANSEL, W.; ALILA, H. W.; DOWD, J. P.; YANG, X. Control of steroidogenesis In small and large bovine luteal cells. **Australian Journal of Biological Science**, v.40, p.331-47, 1987.

HAYASHI, M.; MCGEE, E. A.; MIN, G.; KLEIN, C.; ROSE, U. M.; VAN DUIN, M.; HSEUEH, A. J. Recombinant growth differentiation factor-9 (GDF-9) enhances growth and differentiation of cultured early ovarian follicles. **Endocrinology**, v.140, p.1236-1244, 1999.

HEERSCHER Jr., G.; NEBEL, R. L. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. **Journal Dairy Science**, v.77, p.2754-2761, 1994.

HEUWIESER, W.; OLTENACU, P. A.; LEDNOR, A. J.; FOOTE, R. H.; Evaluation of different protocols for prostaglandin synchronization to improve reproductive performance in dairy herds with low estrus detection efficiency. **Journal Dairy Science**, v.77, p.2754-2761, 1994.

HODGEN, G. D. The dominant ovarian follicle. **Fertility and Sterility**, v.38, p.281-300, 1982.

HORTA, A. E. M.; CHASSAGNE, M.; BROCHART, M. Prostaglandin F2 α and prostacyclin imbalance in cows with placental retention: New findings. **Annales de Recherches Vétérinaires**, v.17, p.395- 399, 1986.

HULSHOF, S. C. J.; FIGUEIREDO, J. R.; BEKERS, J. F.; BEVERS, M. M.; VAN DEN HURK, R. Isolation and Characterization of pre-antral follicles from fetal bovine ovaries. **The Veterinary Quartely**. v.2, n.16, p.78-80, 1994.

HURNIK, J. F. Sexual behavior of female domestic mammals. **Veterinary Clinical Norther American Food Animal Practice**, v.3, p.423-461, 1987.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Agropecuária, Pesquisa da Pecuária Municipal, v.38, 2010. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 de nov. 2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Divisão territorial brasileira, 2008. Disponível em: ftp://geoftp.ibge.gov.br/organiza%C3%A7%C3%A3o_territorial/divisao. Acesso em: 12 de nov. 2011.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: Roche J.F., O' Callaghan, D. (Eds) **Follicular growth and ovulation rate in farm animals**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, MA, p.1-18, 1987.

JACKSON, P. S.; ESSLEMONT, R. L.; BAILIE, J. H. Subsequent fertility following cloprostenol induced luteolysis in the bovine. **Veterinary Record**, v.112, p.153-154, 1983.

JOHNSON, S. K.; JONES, R. Costs and comparisons of estrus synchronization systems. In: APPLIED REPRODUCTIVE STRATEGIES IN BEEF CATTLE, 2005. Texas. **Proceedings...**, 2005, p.235-249.

JOCHLE, W.; KUZMANOV, D.; VUJOSEVIC, J. The regulation of gonadotrin secretion in farm animals. **Theriogenology**, v.18, p.215-225, 1982.

JUENGEL, J. L.; HUDSON, N. L.; HEATH, D. A.; SMITH, P.; READER, K. L.; LAWRENCE, S. B.; O'CONNELL, A. R.; LAITINEN, M. P.; CRANFIELD, M.; GROOME, N. P. Growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 are essential for ovarian follicular development in sheep. **Biology of Reproduction**, v.67, p.1777-1789, 2002.

KARSCH, F. J.; FOSTER, D. L.; LEGAN, S. J.; RYAN, K. D.; PETER, G. K. Control of preovulatory endocrine events in the ewe interrelationship of estradiol, progesterone and luteinizing. **Endocrinology**, v.105, p.421-426, 1979.

KARSCH, F. J. Central actions of ovarian steroids in feed back regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. **Annual Review of Physiology**, v.49, p.365-82, 1987.

KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of postaglandin F2 α treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.23, p.169-180, 1991.

KASTELIC, J. P., OLSON, W. O., MARTINEZ, M. A., COOK, R. B., MAPLETOFT, R. J. Synchronization of estrous in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. **Canadian Veterinary Journal**, v.40, p.173-8, 1999.

KESNER, J. S.; PADMANABHAN, V.; CONVEY, E. M.; Estradiol induces and progesterone inhibits the preovulatory surges of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v.26, p.571-578, 1982.

KINDER, J. E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G. M.; WEHRMAN, M. E.; FIKE, K. E. Progestin and estrogen regulation of pulsatile lh release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.74, p.1424-1440, 1996.

LANDAETA-HERNANDEZ, J. P.; PALOMARES-NAVEDA, R.; SOTO-CASTILHO, G.; ATENCIO, A.; CHASE JR, C. C.; CHENOWETH, P. J. Social and breed effects on the expression of a PGF2 α induced o estrus in beef cows. **Reproduction in Domestic Animals**, v.39, p.315-320, 2004.

LAMOND, D. R. Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. **Animal Breeding**, v.32, p.269-285, 1964.

LARSON, L. L.; BALL, P. J. H. Regulation of estrus cycle in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, v.38, p.255–267, 1992.

LEMON, M. The effect of oestrogens alone or in association with progestagens on the formation and regression of the corpus luteum of the cyclic cow. **Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique**, v.15, n.2, p.243-53, 1975.

LIU, X.; ANDOH, K.; YOKOTA, H.; KOBAYASHI, J.; ABE, Y.; YAMADA, K.; MIZUNUMA, H.; IBUKI, Y. Effects of growth hormone, activin, and follistatin on the development of preantral follicle from immature female mice. **Endocrinology**, v.139, p. 2342-2347, 1998.

LIU, X.; ANDO, K.; ABE, Y.; KOBAYASHI, J.; YAMADA, K.; MIZUNUMA, H.; IBUKI, Y. A comparative study on transforming growth factor-beta and activin A for preantral follicles from adult, immature, and diethylstilbestrol-primed immature mice. **Endocrinology**, v.140, p.2480-2485, 1999.

LOWMAN, B.G.; SCOTT, N.A.; SOMERVILLE, S.H. **Condition scoring of cattle**. Edinburgh: The East of Escotland College of Agriculture, p.1-13, 1976. (Bulletin, 6).

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

MACMILLAN, K. L.; TAUFA, V. K.; BARNES, D. R.; DAY, A. M. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v. 21, p. 25–40, 1991.

MACMILLAN, K. L.; PETERSON, A. J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v.33, p.1-25, 1993.

MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of estrus cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.307–320, 1996.

MADUREIRA, E. H. Controle farmacológico do ciclo estral com emprego de progesterona e progestágenos em bovinos. *In*: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo. **Anais...** Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, p.89-98, 2000.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: 2005.

MAIO, J. R. G.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, M. M.; SENEDA, M. M. Perfil plasmático de progesterona e taxa de prenhez à IATF de fêmeas bovinas tratadas com Sincrogest (Dispositivo Intravaginal de Progesterona). **A Hora Veterinária**, v. 165, p. 41-44, 2008.

MARKSTRÖM, E.; SVENSSON, E. C.; SHAO, R.; SVANBERG, B.; BILLIG, H. Survival factors regulating ovarian apoptosis: dependence on follicle differentiation. **Reproduction**, v.123, p.23-30, 2002.

MARQUES, M. O.; AYRES, H.; REIS, E. L.; MAPLEFORT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efeito do Cipionato e do Benzoato de estradiol na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinária**, v.32, p.222, 2004.

MARQUES, M. O.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U. Efeito do tratamento com PGF2 α na inserção ou do eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. In: Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal, SBTE, p. 218, 2005.

MARTINEZ, M. F.; BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J. Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 1, 2004, Londrina, PR. **Anais ... Londrina: UEL**, 2004. p.26-55.

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; BÓ, G. A.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Effects of oestradiol and some of this esters on gonadotrophin releasing and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U. ; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular em novilhas e vacas nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou não a progesterona injetável. **Acta Scientiae Veterinarie**, v.33, p.227, 2005. Suplemento 1.

MATTON, P.; ADELAKOUN, V.; COUTURE, Y.; DUFOUR, J. J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v.52, p.813-820, 1981.

McCRAKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiological Reviews**, v.79, p.263-323, 1999.

McEVOY, T. G., et al. Dietary-induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent in

vivo and in vitro development of their ova. **Animal Reproduction Science**, v. 39, n. 2, p. 89-107, 1995.

MCNATTY, K. P.; HEATH, D. A.; LUNDY, T.; FIDLER, A. E.; QUIRKE, L.; O'CONNELL, A.; SMITH, P.; GROOME, N.; TISDALL, D. J.; Control of early ovarian follicular development. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, n.54, p.3-16, 1999.

MELO, P. C. H.; VALE, W. G.; ERNANE, W.; ROLIM FILHO, S. T.; RIBEIRO, H. F. L.; REIS, A. N.; SOUSA, J. S.; SILVA, A O A. Fixed timed artificial insemination (FTAI) through progestagen (CIDR) of 1st, 2nd, 3rd and 4th uses in bovine: II. Conception rate related to times of CIDR use, to the semen used, to artificial insemination technician and to farm management. **Livestock Research for Rural Development**, v.24, Article.62. 2012. Disponível em: <http://www.lrrd.org/lrrd24/4/melo24062.htm>. Acesso em: 25 de abr de 2012.

MELO, W. O.; SOUZA, J. A. T.; ELIAS, A. K. S.; ROCHA, I. J.; CONCEIÇÃO, E. J.; MARTÍNEZ, J. J. M.; VALARELLI, R.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S. Estradiol e prostaglandina na concepção de vacas nelore sincronizadas para IA em tempo fixo. **Archivos de Zootecnia**, v.60, p. 305 – 308, 2011.

MENEGUETTI, M.; MIGUEL JR, J.C. Addition of eCG on a fixed timed artificial insemination protocol in the conception rate of cycling Nelore heifers. **Acta Scientiae Veterinarie**, v.36, p.638, 2008

MILLER, H. M.; FOXCROFT, G. R.; SQUIRES, J.; AHERNE, F. X. The effects of feed intake and body fatness on progesterone metabolism in ovariectomized gilts. **Journal of Animal Science**, v.77, p.3253-3261, 1999.

MIHM, M.; AUSTIN, E. J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.155-166, 2002.

MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F. J. The estradiol-induce surge of gonadotropin releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v.127, p.1375-1384, 1990.

MORAES, J. C. F. Controle da reprodução em bovinos de corte. *In*: Simpósio de Reprodução Bovina: Sincronização de Estros em Bovinos, 1, 2002, Porto Alegre, RS. **Anais ...** Porto Alegre: Gráfica Jacuí, 2002, p.32-40.

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONSALVES, P. B. D. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. *In*: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**, São Paulo: Livraria Varela, 2001. cap.3, p.25-55.

MOREIRA, R. J. C. **Uso do protocolo Crestar® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF2 α , PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte**. 2002. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária Piracicaba, São Paulo, 2002.

MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, L.; ORTISI, F.; BÓ, G. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408, 2001.

MOTOMELO, K. C. et al Synchronization of oestrus in goats: the use of different progestagen treatments. **Small Ruminant Research**, v. 45, p. 45-49, 2002.

MUKASA-MUGERWA, E. A review of reproductive performance of female *Bos indicus* (Zebu) cattle. **ILCA monograph**, v.6, p.1-34, 1989.

MURPHY, B. D. Models of luteinization. **Biology of Reproduction**. v.63, p. 2-11, 2000.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic Gonadotrophin. **Endocrine Reviews**, v.12, p.27-44, 1991.

NILSSON, E.; PARROT, J. A.; SKINNER, M. K. Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.175, p.123-130, 2001.

NILSSON, E.; SKINNER, M. K. Cellular interactions that control primordial follicle development and folliculogenesis. **Journal of the Society for Gynecologic Investigation**, v.8, p.17-20, 2001.

NILSSON, E. E.; SKINNER, M. K. Growth and differentiation factor-9 stimulates progression of early primary but not primordial rat ovarian follicle development. **Biology of Reproduction**, v.67, p.1018-1024, 2002.

NILSSON, E. E.; SKINNER, M. K. Bone morphogenetic protein-4 acts as an ovarian follicle survival factor and promotes primordial follicle development. **Biology of Reproduction**, v.69, p.1265-1272, 2003.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J. L.; SILVA, P. J. Mechanism controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews** , v.80, p.1-29, 2000.

O'SHEA, J. D.; RODGERS, R. J.; D'OCCHIO, M. J. Cellular composition of the cyclic corpus luteum of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.85, p.483-487, 1989.

ODDE, K. G. A Review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.78, p.817-830, 1990.

OTSUKA, F.; YAO, Z.; LEE, T. H.; YAMAMOTO, S.; ERICKSON, G. F.; SHIMASAKI, S. Bone morphogenetic protein-15, p. identification of target cells and biological functions. **The Journal of Biological Chemistry**, v.275, p.39523-39528, 2000.

PARR, R. A.; DAVIS, I. F.; MILES, M. A.; SQUIRES, T. J. Feed intake affects metabolic clearance rate of progesterone in sheep. **Research in Veterinary Science**, v.55, p.306-310, 1993a.

PARR, R. A.; DAVIS, I. F.; MILES, M. A.; SQUIRES, T. J. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. **Research in Veterinary Science**, v.55, p.311-316, 1993b.

PARROT, J. A.; SKINNER, M. K. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Endocrinology**, v.140, p.262-271, 1999.

PENTEADO, L.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Variação na taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao Benzoato ou ao Cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.260, 2005.

PERES, R.F.G. **Efeito da concentração pré e pós-ovulatória de progesterona em protocolos de IATF em fêmeas Nelore**. 2008. 87f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PERES, R. F. G.; CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Strategies to improve fertility in Bos indicus postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.72, p.681-9, 2009.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCI, L. R.; SENTELHAS, P. C. **Agrometeorologia: Fundamentos e Aplicações Práticas**. Guaíba – RS: Livraria e Editora Agropecuária, 2002. 478p.

PEREIRA, C. R. **Luteólise antecipada em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo com progesterona em vacas no pós parto**. 2010. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonograph of the bovine ovary. **Theriogenology**, v.21. p.495-504, 1984.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonographic appearance of the bovine uterus during the estrous cycle. **Journal of the American Veterinary Medical Association** p.995 -1001, 1987.

PIMENTEL, J. R. V. **Emprego de matriz polimérica biodegradável em dispositivos vaginais para liberação sustentada de progesterona em fêmeas bovinas**: 2006. Dissertação 97p. (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Pirassununga, 2006.,

PRATT, S. L. et al. Luteal function, estrus response and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2721-2726, 1991.

PRICE, C. A., WEBB, R. Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v.122, p.2222-31, 1988.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. **Theriogenology**, v.44, p.915-923, 1995.

RAE, D. O.; CHENOWETH, P. J.; GIANGRECO, M. A.; DIXON, P. W.; BENNET, F. L. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. **Theriogenology**, v.51, p.1121-1132, 1999.

RAHE, C. H.; OWENS, R. E.; FLEEGER, J. L.; NEWTON, H. J.; HARMS, P. G. **Pattern of Reproduction Science**, v.23, p.169-180, 1980.

RAJAKOSKI, E. Ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal cyclical and left-right variations. **Acta Endocrinology**, v.34, p. 379-92, 1960. Supplement 52.

REIS, E. L.; GIMENES, L. U.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efeitos do Cipionato e do Benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 236, 2004.

REYNAUD, K.; DRIANCOURT, M. A. Oocyte attrition. Molecular and cellular, **Endocrinology**, v.163, p.101-108, 2000.

ROCHA, D. C.; DE AZEREDO, D. M.; BESKOW, A.; PETRUCCI, B. P. L.; COSTA MATTOS, R.; MACEDO GREGORY, R. Efeito da redução na dose de benzoato de ao final de um protocolo para IATF em novilhas de corte. In: VII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 2007 Córdoba, Argentina, **Anais...** 2007, p.245.

ROCHE. J. F.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.28, p.371-378, 1992.

ROSSA, L. A. F. **Sincronização da ovulação por eCG ou benzoato de estradiol em vacas de corte tratadas com crestar no período pós parto**. 2002. 80f. Tese (Mestrado) - Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade São Paulo, São Paulo, 2002.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **System for Microsoft Windows**: release 8.2. Cary: 2001. 1 CD-ROM.

SATBENFELDT, G. H.; EDQVIST, L. E. Processos reprodutivos da fêmea. In: SWENSON, M.J.; REECE, W., **Duckes Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.615-644.

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.

SANTOS, R. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; PEREZ, G. C.; SÁ FILHO, O. G.; MACIEL, A. B. B. Concentração sérica de progesterona em novilhas cruzadas Nelore/Angus tratadas com diferentes dispositivos intravaginais de progesterona. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 217, 2004.

SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D. K.; SARTORI, R.; WILTBANK, M. C. High feed intake increases blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2831-2842, 2002.

SARTORELLI, E. S.; CARVALHO, L. M.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.; BARROS, C. M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v.63, p.2382-2394, 2005.

SARTORI R, FRICKE PM, FERREIRA JCP, GINTHER OJ, WILTBANK MC. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biologic Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R. D.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 4, p. 905-920, 2004.

SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 197–203, 1993.

SCARAMUZZI, R. J.; ADAMS, N. R.; BAIRD, D. T.; CAMPBELL, B. K.; DOWNING, J. A.; FINDLAY, J. K.; HERDERSON, K. M.; MARTIN, G. B.; MCNATTY, K. P.; MCNEILLY, A. S.; TSONIS, C. G. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in ewe. **Reproduction, Fertility and Development**, v.5, p.459-478, 1993.

SCHOENEMANN, H. M. et al. Pituitary luteinizing hormone releasing receptors in ovariectomized cows after challenge with ovarian steroids. **Biology of Reproduction**, v.32, p. 574-583, 1985.

SEGUIN, B. E.; CONVEY, E. M.; OXENDER, W. D. Effect of gonadotropin release hormone and human chorionic gonadotropin on cows with ovarian follicular cysts. **Journal of Veterinary Research**, v.37, p.153-157, 1976.

SENGER, P. L. **Pathways to pregnancy and parturition**. Moscow: Current, 2003. 368p.

SILVA, P. R. B. et al. Efeitos da reutilização de dispositivo intravaginal de progesterona na eficiência reprodutiva de vacas Nelore. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 36, Ed. 183, Art. 1237, 2011. Disponível em: http://www.pubvet.com.br/artigos_det.asp?artigo=1124. Acesso em: 26/04/2012

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v.39, p.308-317, 1988.

SYMONDS, H. W.; PRIME, G. R. The influence of volume of food intake by gilts on blood flow in the portal vein and clearance of progesterone from plasma. **Animal Production**, v.48, p.620-621, 1989.

SMITH, C. D.; GOSDEN, R. G.; MCNEILLY, A. S.; HILLIER, S. G. Effect of inhibin immunoneutralisation on steroidogenesis in rat ovarian follicles *in vitro*. **Journal of Endocrinology**, v.140, p.437-443, 1994.

SOUZA, A. H. **Inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção**. São Paulo, 2008, 152 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

SPICER, L. J.; ECHETERNKAMP, S. E. Ovarian follicular growth function and turnover in cattle: A review. **Journal of Animal Science**. v.62, p.428-451, 1986.

STANISLAUS, D.; PINTER, J. H.; JANOVICH, J. A. et al. Mechanisms mediating multiple physiological responses to gonadotrofin-releasing hormone. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 144, p. 1-10, 1998.

STELLA, D. E. **Bases gerais da sincronização de estro visando à inseminação artificial em tempo pré-determinado em fêmeas bubalinas**. 2004. 80p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Estadual de São Paulo, BOTUCATU, 2004.

STEWART, F.; ALLEN, W. R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.62, p.527-36, 1981.

STOCK, A. E.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameter. **Endocrinology**, v.132, p.1108-1114, 1993.

TANABE, T. Y.; HANN, R. C. Synchronized estrous and subsequent conception in dairy heifers treated with PGF₂α. Influence of stage of cycle at treatment. **Journal of Animal Science**, v.58, p.805-811, 1984.

THATCHER, W. W.; CHENAULT, J. R. Reproductive physiological responses of cattle to exogenous prostaglandin F₂α. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.7, p.1366-1375, 1976.

THOMAS, F. H.; ARMSTRONG, D. G.; TELFER, E. E. Activin promotes oocyte development in ovine preantral follicles in vitro. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.1, p.76, 2003.

TOWNSON, D. H.; TSANG, P. C.; BUTLER, W. R.; FRAJBLAT, M.; GRIELJR, L. C.; JOHNSON, C. J.; MILVAE, R. A.; NIKSIC, G. M.; PATEL, J. L. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3141-3151, 2002.

TSAI, S.; WILTBANK, M. C. Prostaglandin F₂α induces expression of prostaglandin G/H Synthase-2 in the ovine corpus luteum: a potential positive feedback loop during luteolysis. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1016-1022, 1997.

VALE, E. R. Ciclo estral de bovinos e métodos de controle. Campo grande, MS, 1991. Disponível em: <http://www.cnpqg.embrapa.br/publicações/doc/doc48>. Acessado em: 22 de Junho de 2010.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717-1751, 2005.

VAN VLIET, J. H.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M. Sexual activities and oestrus detection in lactating Holstein cows. **Animal of Behaviour Science**, April 1, v.50, p.57-69, 1996.

VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; ROSA, G. J. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, p.1067-1078, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; SANGSRITAVONG, S.; TSAI, S. J.; WILTBANK, M. C. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. **Theriogenology**, v.60, p.795-807, 2003.

VERNON, R. K.; SPICER, L. J. Effects of basic fibroblast growth factor and heparin on follicle-stimulating hormone-induced steroidogenesis by bovine granulosa cells. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2696-702, 1994.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; FERNANDES, C. A. C. Regressão luteal e dinâmica folicular após luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.257-262, 1999.

VISINTIM, J. A. In: **IV CURSO DE TRANFERÊNCIA DE EMBRIÕES EM BOVINOS**, Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, Pirassununga – SP, 46p, 2001.

VON EULER, U. S. **Archive fur Experimentelle Pathologie und Pharmakologie**, v.175, n.78, 1934.

WAKELING, A. E.; GREEN, L. R. Corpus luteum prostaglandin receptors and luteolysis. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.77, p-131-142, 1981. Supplement.

WANDJI, S. A.; SRSEN, V. A. K.; EPPIG, J. J.; FORTUNE, J. E. Initiation in vitro of growth of bovine primordial follicles. **Biology of Reproduction**, v.55, p.942-948, 1996.

WEBB, R.; GOSDEN, R. G.; TELFER, E. E.; MOOR, R. M. Factors affecting folliculogenesis in ruminants. **Animal Science**, v. 68, p. 257-284, 1999.

WEBB, R.; NICHOLAS, B.; GONG, J. G.; CAMPBELL, B. K.; GUTIERREZ, C. G.; GARVERICK, H. A.; ARMSTRONG, D. G. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. **Reproduction Supplement**. v.61, p.71-90, 2003.

WHITE, F. J.; WETTEMANN, R. P.; LOOPER, M. L.; PRADO, T. M.; MORGAN, G.L. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in non-lactating beef cows. **Journal of Animal Science**, v.80, p.3053-3059, 2002.

WILTBANK, J. N.; INGALLS, J. E.; ROWDEN, W. W. Effects of various forms and levels of estrogens alone or in combination with gonadotrophins on the estrous cycle of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.20, p.341–346, 1961.

WILTBANK, M. C.; SHIAO, T. F.; BERGFLET, D. R. PGF2 α receptors in the early bovine corpus luteum. **Biology Reproductive**, v.52, p.74-78, 1995.

WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; SANGSRITAVONG, S.; SARTORI, R.; GINTHER, O. J. Mechanisms that prevent and produce double ovulation in dairy cattle. **Journal Dairy of Science**, v.83, p.2998-3007, 2000.

WILTBANK, M. C. et al. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.21-52, 2002.

WINKLER, V. W.; BRORODKIN, S.; WEBEL, S. K.; MANNEBACH, J. T. In vitro and in vivo considerations of a novel matrix-controlled bovine progesterone-releasing intravaginal device. **Journal of Pharmacy Science**, v.66, p.816-818, 1977.

WRIGHT, P. J.; MALMO, J. Pharmacologic manipulation of fertility. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 8, n. 1, p. 57-89, 1992.

WU, J.; NAYUDU, P. L.; KIESEL, P. S.; MICHELMANN, H. W. Luteinizing Hormone has a stage-limited effect on pre-antral follicle development *in vitro*. **Biology of Reproduction**, v.63, p.320-327, 2000.

XU, Z.; GARVERICK, H. A.; SMITH, G. W.; SMITH, M. F.; HAMILTON, S. A.; YOUNGQUIST, R. S. Expression of folliclestimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53, p.951-957, 1995.

ZHAO, J.; DORLAND, M.; TAVERNE, M. A. M.; VAN DER WEIJDEN, G. C.; BEVERS, M. M.; VAN den HURK, R. In vitro culture of rat pre-antral follicles with emphasis on follicular interactions. **Molecular Reproduction and Development**, v.55, p.65-74, 2000.

ZHENG, Y.; PROENÇA, R.; MAFFEI, M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature**, v.372, p.425-432, 1994.