

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ÍTALO CÂMARA DE ALMEIDA

**EFEITO DO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO EM VACAS MISTIÇAS NO
PERÍODO PÓS-PARTO**

ALEGRE-ES

2015

ÍTALO CÂMARA DE ALMEIDA

**EFEITO DO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO EM VACAS MISTIÇAS NO
PERÍODO PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Jeanne Broch Siqueira
Coorientador: Dr. Fabrício Albani Oliveira

ALEGRE-ES

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Almeida, Ítalo Câmara de, 1986-

A447e Efeito do protocolo de pré-sincronização em vacas mestiças no período pós-parto / Ítalo Câmara de Almeida. – 2015.

65 f. : il.

Orientador: Jeanne Broch Siqueira.

Coorientador: Fabrício Albani Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Reprodução animal. 2. Estradiol. 3. Progesterona. 4. Protocolo hormonal. 5. Eficiência reprodutiva. 6. Inseminação artificial. I. Siqueira, Jeanne Broch. II. Oliveira, Fabrício Albani. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 619

ÍTALO CÂMARA DE ALMEIDA

**EFEITO DO PROTOCOLO DE PRÉ-SINCRONIZAÇÃO EM VACAS
MISTIÇAS NO PERÍODO PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Aprovado em 26 de Fevereiro de 2015.

COMISSÃO EXAMINADORA



Dr. Fabrício Albani Oliveira
Coorientador
Instituto Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Graziela Barioni
Universidade Federal do Espírito Santo



Dr. João Gomes de Siqueira
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Aos meus pais Inês Andrade Câmara e José
Antônio de Almeida Filho.
A minha irmã Talita Câmara de Almeida e meu
sobrinho Inácio Câmara Gomes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois com Ele ao meu lado concluí mais uma etapa em minha vida.

Aos meus pais Inês e José Antônio pelo amor, dedicação e apoio constante em minhas decisões, sempre acreditando e confiando nos meus sonhos.

A minha irmã Talita pela amizade e companheirismo incondicional, ao meu sobrinho Inácio, que ilumina nossas vidas, e ao Leandro pelo convívio.

A orientadora Jeanne Broch Siqueira pela confiança, e principalmente ao coorientador e amigo Fabrício Albani Oliveira pelas oportunidades, paciência e ensinamentos, pessoa fundamental para realização desta dissertação. Muito obrigado!

A professora e amiga Graziela Barioni pela ajuda, presença constante sempre e participação na banca de defesa.

Ao meu amigo João Gomes de Siqueira pelos ensinamentos, por participação na banca de defesa e por participar de mais esta etapa na minha caminhada. Exemplo de ética e dedicação ao trabalho.

A professora Carla Braga Martins e ao professor Felipe Berbari Neto pelas considerações na banca de qualificação.

A Universidade Federal do Espírito Santo, e ao Centro de Ciências Agrárias.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de realização do mestrado e todos os seus professores e funcionários.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao amigo Vinícius Borges Taquetti pelo apoio logístico e convivência em Alegre.

Aos amigos de trabalho Roberto Ramos Sobreira e Yan Luiz Garcia.

E todos que direta ou indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho.

"Você nunca sabe que resultados virão de suas ações. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados."

Mahatma Gandhi.

RESUMO

ALMEIDA, ÍTALO CÂMARA DE. **Efeito do protocolo de pré-sincronização em vacas mestiças no período pós-parto**. 2015. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

Objetivou-se avaliar a eficiência do protocolo hormonal de pré-sincronização a base de progesterona e estradiol em vacas mestiças, leiteiras, lactantes, primíparas e múltiparas, no início do pós-parto, quanto a dinâmica folicular e a eficiência reprodutiva. Foram utilizadas 92 vacas entre 30 a 90 dias pós-parto, distribuídas ao acaso em dois grupos experimentais, controle (GC) e tratamento (GT). No GC os animais foram submetidos apenas ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), e no GT os animais foram submetidos a um protocolo hormonal para a pré-sincronização antes da IATF. Para o GC foram utilizadas 45 vacas, sendo seis para análise da dinâmica folicular e 39 para avaliação da eficiência reprodutiva, e seguiu-se com o protocolo hormonal: no dia zero (D0): inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIV P₄) novo e aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE); D8: retirada do DIV P₄, aplicação IM de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e aplicação IM de 0,15 mg de cloprostenol sódico (prostaglandina); D9: aplicação IM de 1 mg de BE e; D10: IATF dos animais. Para o GT foram utilizadas 47 vacas, sendo oito para análise da dinâmica folicular e 39 para detecção da taxa de prenhez, e seguiu-se com o protocolo hormonal de pré-sincronização hormonal: dia menos dezenove (D-19): inserção DIV P₄ previamente utilizado (4^o uso) e aplicação IM de 2 mg de BE; D-11: retirada do DIV P₄ e aplicação IM de 1 mg BE; decorridos 11 dias da retirada do DIV P₄ previamente utilizado, iniciou-se o protocolo para a IATF dos animais, com protocolo idêntico ao utilizado para o GC. Os exames de ultrassonografia referentes a dinâmica folicular, foram realizados nos dias 0, 8 e à partir do dia da IATF (D10), de 12 em 12 horas até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante. Decorridos 30 dias da IATF, estimou-se a taxa de prenhez por meio de exame de ultrassonografia. Os dados foram analisados no programa estatístico SAS, a 5% de probabilidade. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) na média do número de folículos nos dias 0, 8 e 10 entre os tratamentos. Não houve diferença significativa ($p>0,05$) para a taxa de

crescimento folicular, que foi de $1,8 \pm 0,24$ e $0,79 \pm 0,35$ mm / dia para os grupos GT e GC, respectivamente. Não houve efeito do tratamento ($p > 0,05$) para o diâmetro do folículo dominante no momento da IATF, sendo $12,5 \pm 1,61$ mm para o grupo tratamento e $11,9 \pm 2,26$ mm para o grupo controle. Não houve efeito dos tratamentos ($p > 0,05$) sobre o intervalo entre a retirada do dispositivo de progesterona e a ovulação dos grupos GT ($65h25min \pm 8h13min$) e GC ($66h \pm 10h03min$), e também da ovulação a IATF, que foi de $14h15min \pm 7h,36min$ e $15h06min \pm 9h04min$ para os grupos GT e GC, respectivamente. Não houve efeito dos tratamentos ($p > 0,05$) sobre a taxa de ovulação e de prenhez, que foi de 88,8% e 53,84%, respectivamente para o GT e 75% e 38,46%, respectivamente para o GC. Houve diferença significativa ($p < 0,05$) na taxa de prenhez entre as vacas primíparas (23,07%) e multíparas (69,23%) para o GT. Conclui-se que o uso do protocolo de pré-sincronização em vacas mestiças no início do pós-parto não apresentou diferenças acentuadas nos padrões avaliados. As vacas multíparas obtiveram taxa de prenhez superior as vacas primíparas. A taxa de prenhez das vacas do grupo pré-sincronização foi considerada satisfatória, acima dos 50% para protocolos de IATF.

Palavras-chave: estradiol; IATF; progesterona

ABSTRACT

ALMEIDA, ÍTALO CÂMARA DE. **Effect of pre-synchronization protocol in crossbred cows in the postpartum period.** 2015. 65p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

This study aimed to evaluate the efficiency of the pre-synchronization hormonal protocol based in progesterone and estradiol in crossbred cows, milch, lactating, primiparous and multiparous, in early postpartum, regarding the follicular dynamics and reproductive efficiency. It were used 92 cows from 30 to 90 days postpartum, which were randomly allocated to two experimental groups, control (CG) and treatment (TG). In the control group, animals were subject only to time-fixed artificial insemination protocol (TAI), and TG animals were submitted to a hormonal protocol for pre-synchronization before TAI. For the CG it were used 45 cows, in which 6 were used for analysis of follicular dynamics and 39 to evaluate the reproductive efficiency, and followed that up with the hormonal protocol: on day zero (D0): insertion of intravaginal progesterone device (DIV P₄) new and intramuscular injection(IM) of 2 mg estradiol benzoate (EB); D8: removal of DIV P₄ IM, administration of 300 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) and IM administration of 0,15 mg of sodium cloprostenol (prostaglandin); D9: IM application of 1 mg of EB and; D10: TAI of the animals. For the TG it were used 47 cows, 8 of them for analysis of follicular dynamics and 39 to detect the pregnancy rate, and followed that up with the hormonal protocol of hormonal pre-synchronization: Day least nineteen (D-19): inserting DIV P₄ previously used (4thuse) and IM administration of 2 mg of EB; D-11: removal of DIV P₄ and IM application of 1 mg BE; elapsed 11 days from the withdrawal of DIV P₄ previously used, it began the protocol for TAI of animals with identical protocol to that used for the CG. The ultrasound exams regarding the follicular dynamics were performed on days 0, 8 and starting from the day of TAI (D10) in every 12 hours until the determination of ovulation by the absence of the dominant follicle. After 30 days of TAI, it was estimated the pregnancy rate by ultrasound examination. Data were analyzed using SAS statistical program, considering the 5% critical probability. There was no significant difference (P>0,05) in the mean number of follicles on days 0, 8 and 10 between treatments. There was no

significant difference ($p > 0,05$) for follicular growth rate, which was $1,8 \pm 0,24$ and $0,79 \pm 0,35$ mm / day for the TG and CG groups, respectively. There was no effect of treatment ($P > 0,05$) to the diameter of the dominant follicle at the moment of TAI, and $12,5 \pm 1,61$ mm for the treatment group and $11,9 \pm 2,26$ mm for the control group. There were no effects of treatments ($P > 0,05$) on the interval between the removal of progesterone device and ovulation of TG ($65\text{h}25\text{min} \pm 8\text{h}13\text{min}$) and CG ($66\text{h} \pm 10\text{h}03\text{min}$), and also of ovulation TAI, which was $14\text{h}15\text{min} \pm 7\text{h}36\text{min}$ and $15\text{h}06\text{min} \pm 9\text{h}04\text{min}$ for TG and CG groups, respectively. There were not effects of treatments ($P > 0,05$) on the rate of ovulation and pregnancy, which was 88,8% and 53,84%, respectively for the TG and 75% and 38,46%, respectively for the CG. There was a significant difference ($P < 0,05$) in pregnancy rate between primiparous cows (23.07%) and multiparous (69.23%) for the TG. It is concluded that the use of pre-synchronization protocol in crossbred cows in the early postpartum showed no marked differences in the evaluated patterns. Multiparous cows had higher pregnancy rate primiparous cows. The pregnancy rate of pre-synchronization group of cows was satisfactory, above 50% for TAI protocols.

Keywords: estradiol; progesterone; TAI

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1	Esquema do ciclo estral e dinâmica folicular em bovino.....	19
Figura 2	Esquema ilustrativo do protocolo hormonal utilizado no grupo controle (GC).	38
Figura 3	Esquema ilustrativo do protocolo de pré-sincronização hormonal utilizado no grupo tratamento (GP).....	39

LISTA DE ABREVIATURAS

ASBIA	Associação Brasileira de Inseminação Artificial
BE	Benzoato de estradiol
CAP	Acetato de clormadinona
CE	Cipionato de estradiol
CL	Corpo lúteo
DIV	Dispositivo intravaginal de progesterona
E ₂	17β estradiol
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FD	Folículos dominantes
FGA	Acetato de flurogesterona
FM	Folículos médio
FP	Folículos pequenos
FSH	Hormônio folículo estimulante
GC	Grupo controle
GnRH	Hormônio Liberador de gonadotrofinas
GT	Grupo pré-sincronização hormonal
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IFN-τ	Interferon tau
IM	Intramuscular
LH	Hormônio luteinizante
MAP	Acetato de
MGA	Acetato de melengestrol
P ₄	Progesterona
PG	Prostaglandina
PGF _{2α}	Prostaglandina F _{2α}
PMSG	Gonadotrofina do soro da égua gestante
VE	Valerato de estradiol

LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
Tabela 1	Média e desvio padrão do número de folículos de acordo com a classificação em folículos pequenos (< 6mm), folículos médios (entre 6 e 8mm) e folículos dominantes (> 8mm) nos grupos pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) de fêmeas mestiças em anestro pós-parto.....	41
Tabela 2	Média e desvio padrão da taxa de crescimento folicular, diâmetro do maior folículo no dia 10/momento da inseminação artificial, intervalo da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona e da IATF à ovulação dos grupos pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) de fêmeas mestiças em anestro pós-parto.....	42
Tabela 3	Taxa de prenhez (%) de vacas mestiças submetidas ao grupo pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) no pós-parto recente (30-60 dias) e pós-parto tardio (60-90 dias).....	47
Tabela 4	Taxa de ovulação (%) e taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos do grupo pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) de vacas mestiças no pós-parto.....	48
Tabela 5	Taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos para os grupos pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) para as vacas primíparas e multíparas.....	50

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Interações hormonais e Ciclo estral.....	17
2.2 Dinâmica folicular.....	20
2.3 Anestro pós-parto.....	22
2.4 Exposição uterina à progesterona.....	25
2.5 Inseminação artificial em tempo fixo.....	28
2.6 Hormônios utilizados na inseminação artificial em tempo fixo.....	28
2.6.1 Progesterona.....	28
2.6.2 Estrógeno.....	31
2.6.3 Prostaglandina.....	33
2.6.4 Gonadotrofina coriônica equina.....	35
3 METODOLOGIA	37
3.1 Localização.....	37
3.2 Animais e manejo.....	37
3.3 Protocolos experimentais.....	38
3.4 Variáveis Analisadas.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5 CONCLUSÕES	51
6 REFERÊNCIAS	52

1. INTRODUÇÃO

A bovinocultura tem papel importante no desempenho econômico e na geração de empregos no Brasil, e contribui de maneira fundamental para o seu desenvolvimento. O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, ultrapassando 211 milhões de cabeças em 2013. É o maior exportador de carne desta espécie e um dos maiores produtores de leite (IBGE, 2013).

O Espírito Santo possui mais de 30 mil estabelecimentos agropecuários que tem como atividade a bovinocultura e, de acordo com o Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER, 2012), o Estado possui um rebanho de aproximadamente 2,2 milhões de cabeças de gado, ocupando uma área de 1,37 milhão de hectares de pastagens. Estima-se que deste total, 390 mil cabeças são destinadas a pecuária leiteira.

Apesar da crescente expansão da bovinocultura nos últimos anos, ainda é necessário a obtenção de um bezerro/vaca/ano para que esta seja uma atividade sustentável e competitiva, no entanto, as principais limitações para que tal objetivo seja atingido são o prolongado anestro pós-parto e falhas na detecção do estro (YAVAS e WALTON, 2000).

O anestro pós-parto reduz a produção de bezerros por aumentar o intervalo do parto ao primeiro cio, causando perdas econômicas na produção. Conceitualmente, anestro é o período de transição da aciclicidade para a ciclicidade, no qual o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano-uterino se recupera da gestação (BRAUNER et al., 2009). Decorrente da liberação contínua de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) pelo endométrio após o parto, o corpo lúteo da gestação anterior regride rapidamente e a primeira ovulação pós-parto não é precedida por um cio evidente (HAFEZ e HAFEZ, 2004), justificando assim cerca de 50% de fêmeas não gestantes no início do pós-parto (MADUREIRA et al., 2006).

Desta forma, a primeira ovulação que ocorre posteriormente ao anestro pós-parto não é acompanhada de estro. Essa situação é chamada de ovulação silenciosa. Para que ocorra a expressão máxima do comportamento estral, a progesterona deve estar presente por um certo período antes da exposição do estradiol, ou seja, a progesterona do primeiro corpo lúteo formado após a primeira ovulação pós-parto ativa o eixo hipotalâmico-hipofisário das vacas fazendo com que ele se torne mais

sensível ao estradiol. Posteriormente, quando o estradiol do segundo grupo de folículos após o anestro aparece, a fêmea demonstra o comportamento de estro visto que o eixo hipotalâmico-hipofisário foi ativado pela progesterona do primeiro corpo lúteo formado no pós-parto (SENGER, 2003).

Portanto, com o intuito de evitar a liberação contínua de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no pós-parto, uma prévia exposição à progesterona (P_4) pode reduzir consideravelmente a lise precoce do corpo lúteo, e juntamente com a P_4 , o contato com o estradiol (E_2) pode promover a regulação da cascata hormonal e a sincronização da ovulação, e deste modo, reestabelecer a liberação dos hormônios responsáveis para o retorno regular da ciclicidade.

A inserção de biotecnologias reprodutivas na bovinocultura tende à alavancar a produtividade do setor, aumentando a renda dos produtores, proporcionando melhoramento genético do rebanho, aumentando o número de parições e diminuindo o intervalo entre partos (IP). Em conjunto com as biotecnologias reprodutivas, outros fatores importantes devem ser considerados, como a sanidade do rebanho, lactação, manejo produtivo (MONTEZUMA JR, 2001), nutrição e condição corporal (FERREIRA, 2000).

As consequências econômicas da baixa eficiência reprodutiva e pouca precisão na detecção do estro são as principais razões pelas quais os programas de pesquisa visam o desenvolvimento de protocolos hormonais para a reprodução (DISKIN et al., 2002). Com o intuito de aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos, pode-se empregar estratégias como a utilização de protocolos hormonais que visam a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF). Estes protocolos são utilizados com a finalidade de antecipar o retorno à ciclicidade, aumentar a sincronização do estro e induzirem a ovulação (VOGG et al., 2004; SÁ FILHO et al., 2009).

Com o uso da IATF vacas híginas no pós-parto podem ser inseminadas, desta maneira, espera-se obter maior número de vacas prenhes neste período, diminuindo o IP e contribuindo para a obtenção de um bezerro/vaca/ano. Outros benefícios da IATF podem ser considerados, como a formação de lotes padronizados e homogêneos, redução da ocorrência de problemas reprodutivos (SÁ FILHO et al., 2006) e o melhoramento genético do rebanho com o uso de touros com superioridade genética comprovada (PEGORER et al., 2011).

Em protocolos de indução e sincronização do estro, a utilização de estradiol associado a implantes de progesterona objetiva suprimir o folículo dominante e

estabelecer a emergência de uma nova onda de crescimento folicular em três ou quatro dias, independente do estágio de desenvolvimento do folículo dominante no início do protocolo (BURKE et al., 2003). Sendo assim, a exposição de vacas no pós-parto por um curto período de tempo a progestágenos é um método eficaz na indução do início da atividade estral. Vacas que são hormonalmente induzidas a restabelecerem suas funções reprodutivas superam as causas de infertilidade no pós-parto, concentrando as concepções no início do período de acasalamento e fazendo com que tenham maior tempo de recuperação pós-parto na temporada de acasalamento subsequente (DAY, 2004).

Objetivou-se então, com o presente estudo, avaliar a dinâmica folicular, o grau de paridade e a taxa de prenhez de vacas mestiças no início do pós-parto após a utilização de protocolo hormonal de pré-sincronização a base de progesterona e estradiol, com posterior protocolo para IATF.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Interações hormonais e Ciclo estral

A fisiologia reprodutiva da fêmea bovina é controlada por interações entre o hipotálamo, a glândula pituitária e o trato reprodutivo. O hipotálamo está localizado na base do cérebro e é constituído por grupos de corpos celulares nervosos. Estes corpos celulares são responsáveis pela produção de hormônios como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e oxitocina (SENGER, 2003).

O órgão alvo do GnRH é a glândula pituitária, localizada abaixo do hipotálamo e responsável pela produção dos principais hormônios reprodutivos, o hormônio folículo estimulante (FSH) e o hormônio luteinizante (LH). O FSH é responsável principalmente por estimular o desenvolvimento do folículo ovariano, e o LH por participar do crescimento final folicular, ovulação e transformação do folículo em corpo lúteo (CL) (SENGER, 2003).

A atividade reprodutiva da fêmea bovina inicia-se na puberdade, quando o animal apresenta cerca de 40 a 50% do peso de um animal adulto (ARIAS et al., 2006). O início da puberdade depende da habilidade específica dos neurônios hipotalâmicos em produzir quantidades suficientes de GnRH para promover e manter a gametogênese. Na fêmea bovina a puberdade é caracterizada a partir do momento em que ela é capaz de levar uma gestação a termo sem efeitos deletérios, para a mãe ou o neonato (SENGER, 2003).

Após a puberdade, a fêmea bovina apresenta ciclicidade reprodutiva que continua pela vida inteira, por isso, é considerada como poliéstrica contínua, isto é, o ciclo estral não é interrompido por modificações estacionais. Este ciclo dura em média 21 dias em vacas adultas e 20 dias em novilhas, podendo variar entre 18 a 24 dias (ARIAS et al., 2006). O ciclo estral, intervalo entre duas ovulações, consiste em uma série de eventos iniciados pelo estro e finalizados com o estro subsequente. Eles continuam durante a vida adulta da fêmea e são interrompidos pela gestação, enfermidades, nutrição inadequada ou condições ambientais estressantes. Estes eventos são responsáveis por mudanças morfofisiológicas no trato genital feminino as quais reaparecem periodicamente de acordo com um ritmo bem definido para cada espécie. Estas modificações são dependentes da produção cíclica dos

hormônios ovarianos, o estrógeno e a progesterona, que, por sua vez, estão sob o controle dos hormônios gonadotróficos hipofisários – hormônio folículo estimulante e hormônio luteinizante (SENGER, 2003).

O ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas que são nomeadas conforme a estrutura predominante presente no ovário durante cada fase do ciclo. Estas divisões do ciclo são a fase folicular e a fase luteal. A fase folicular, ou estrogênica, é o período desde a regressão do corpo lúteo até a ovulação. Esta fase é geralmente curta e, as estruturas ovarianas dominantes, são os folículos em crescimento que produzem estradiol principalmente. A fase luteal ou progesterônica é o período após a ovulação até a regressão do corpo lúteo. Ela é mais longa, e a estrutura predominante no ovário é o corpo lúteo que produz progesterona (SENGER, 2003). No entanto, didaticamente o ciclo estral é dividido em quatro fases distintas: pró-estro, estro (fase folicular), metaestro e diestro (fase luteal) (REECE, 2006) (Figura 1).

O pró-estro é o período que precede imediatamente o estro, possui duração em torno de três dias, iniciado pelas modificações degenerativas do CL. Nesta fase ocorrem os fenômenos proliferativos gerais. Os folículos ovarianos aumentam de volume pela ação das gonadotrofinas hipofisárias e sob a ação do estrógeno produzido por estes folículos, o endométrio e as paredes vaginais se espessam com aumento da irrigação sanguínea. Ele é caracterizado pela maior transição endócrina, passando de um período de dominância de progesterona para um período de dominância de estrógeno. As gonadotrofinas FSH e LH são os hormônios responsáveis por essa transição, e é durante o pró-estro que os folículos são recrutados para ovulação e o sistema reprodutor feminino se prepara para iniciar o estro (SENGER, 2003).

O estro é o estágio mais conhecido do ciclo estral, pois ele é caracterizado pelo comportamento de receptividade sexual. O estro dura aproximadamente 18 horas nas raças européias, mas nas raças zebuínas observam-se períodos mais curtos, de aproximadamente 13 horas (MIZUTA, 2003). A presença do touro pode abreviar esta fase, e condições nutricionais e/ou ambientais tendem a suprimir os sinais de estro devido à reduzida secreção do estrógeno (SENGER, 2003). A ovulação é uma resposta ovariana à secreção de 17- β estradiol e ao pico pré-ovulatório do LH e ocorre em torno de 30 horas após o início do estro, ou seja, entre 10 a 12 horas após o fim do estro.

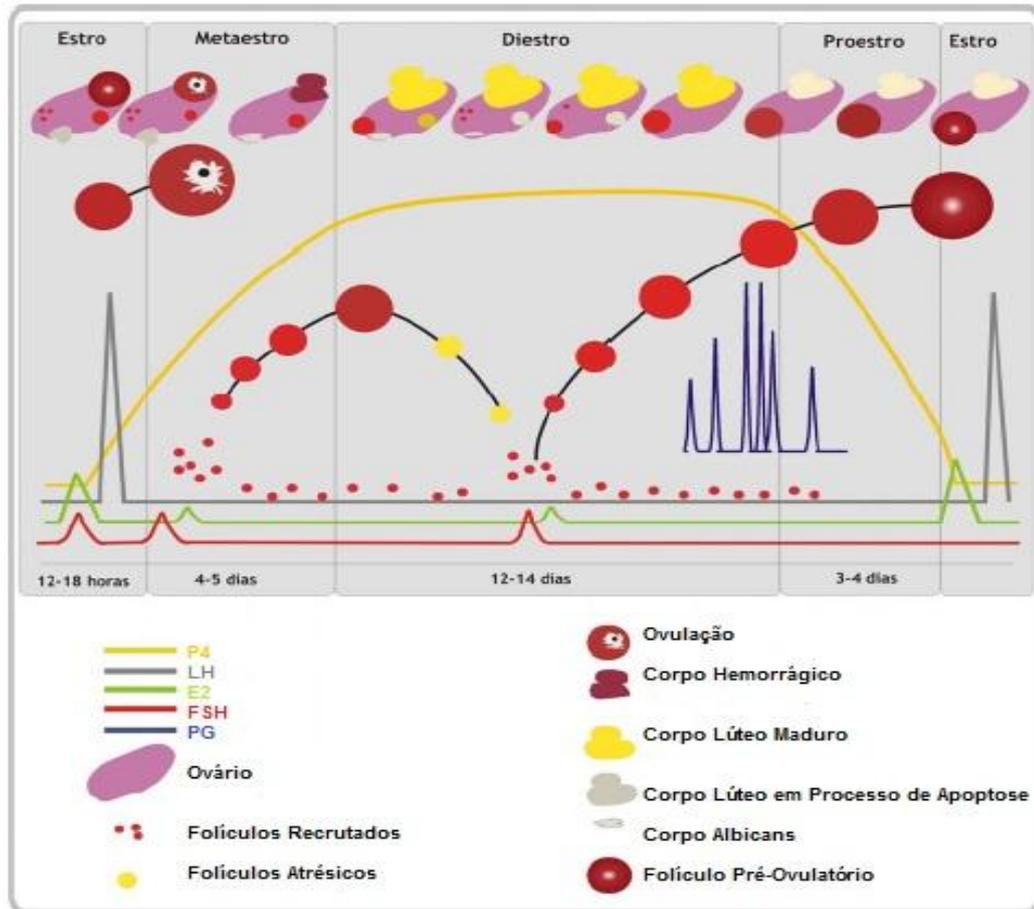


Figura 1 - Esquema do ciclo estral e dinâmica folicular em bovino. P₄ = progesterona; LH = hormônio luteinizante; E₂ = estradiol; FSH = hormônio folículo estimulante; PG = prostaglandina; (Fonte: ALMERAYA, 2010).

O metaestro é o período de transição hormonal, de dominância do estrógeno para a dominância da progesterona, ou seja, período entre a ovulação e a formação do CL. A P₄ irá provocar alterações secretoras no endométrio, cérvix e vagina. Esta fase dura aproximadamente três a quatro dias (SENGER, 2003).

O diestro é o estágio mais longo do ciclo estral, tem duração de aproximadamente 15 a 17 dias e caracteriza-se por ser um período de inatividade sexual. Neste estágio o CL está totalmente funcional e a produção de P₄ é alta, bloqueando o eixo hipotalâmico-hipofisário para liberações pulsáteis de FSH e LH. A elevada concentração de P₄ prepara o útero para o desenvolvimento embrionário inicial e eventualmente sua eclosão e nidação do conceito no endométrio (SENGER, 2003).

Ao fim do diestro, próximo ao 17º dia do ciclo estral, não ocorrendo a implantação de um embrião no útero, o endométrio secreta PGF_{2α} que faz a lise do

corpo lúteo (luteólise) e induz o processo de involução do CL, reiniciando assim, um novo ciclo (REECE, 2006).

2.2 Dinâmica folicular

Dinâmica folicular é o processo de crescimento e regressão de folículos antrais, no formato de ondas, que conduz ao desenvolvimento de um folículo pré-ovulatório. Este processo ocorre continuamente em todo o ciclo estral (SENGER, 2003) (Figura 1) e nos diversos estágios fisiológicos vividos por uma fêmea, incluindo prenhez, pós-parto e novilhas pré-púberes (BÓ et al., 2000).

Fêmeas bovinas apresentam particularidades distintas nos padrões de crescimento das ondas foliculares, que variam dependendo da subespécie, raça, idade e peso à puberdade. Em fêmeas *Bos taurus* existe a predominância de duas a três ondas de crescimento folicular em cada ciclo estral (WOLFENSON et al., 2004), no entanto em vacas zebuínas este padrão pode variar de três a quatro ondas de crescimento folicular (VIANA et al., 2000). Vacas taurinas atingem a puberdade com aproximadamente 40% do seu peso adulto, enquanto vacas zebuínas com 50% do seu peso (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Neste contexto, novilhas *Bos taurus* atingem a puberdade com menos idade (507 ± 37 dias) e menor peso (259 ± 14 Kg) quando comparada as novilhas *Bos indicus* (678 ± 07 dias de idade e 312 ± 11 Kg de peso corporal) (RODRIGUES et al., 2002).

O FSH e o LH estimulam o ovário a produzir ondas de desenvolvimento folicular. Existem três estágios de uma onda folicular, sendo o recrutamento, a seleção e a dominância. Cada onda folicular começa com o recrutamento de um grupo de pequenos folículos, então, os folículos recrutados passam por processo de seleção onde a maioria sofre atresia e um se torna dominante.

O recrutamento é o início da onda folicular, ocasionado por um mínimo estímulo gonadotrófico, suficiente para permitir o progresso em direção à ovulação. Esta fase dura de dois a três dias e se caracteriza pelo crescimento simultâneo de vários folículos sensíveis ao FSH (ARIAS et al., 2006). No início do ciclo estral um grupo de folículos é recrutado de um montante de pequenos folículos antrais (2 a 4 mm). A associação entre a onda de FSH e a emergência de uma nova onda folicular tem sido confirmada independentemente do estágio do ciclo estral, tendo sido

demonstrado em bezerras com seis a oito meses de idade, durante a prenhez e no período pós-parto. Alguns fatores controlam o aumento e a diminuição das concentrações de FSH circulante. O desenvolvimento do folículo nessa fase resulta em concentrações crescentes de E_2 e inibina. Ambos hormônios inibem a liberação de FSH, resultando na atresia dos outros folículos do grupo causando efeito inibitório no crescimento folicular (ARIAS et al., 2006; SENGER, 2003).

Ao final da etapa de recrutamento, inicia-se a fase de seleção, que permitirá ajustar o número de folículos que continua crescendo ao número de ovulações característico de cada espécie (ARIAS et al., 2006). Nas vacas, geralmente, um único folículo emerge do grupo de folículos recrutados e continua crescendo, enquanto que outros folículos recrutados diminuem de tamanho, entrando em atresia (ARIAS et al., 2006).

A dominância se caracteriza pelo crescimento do folículo dominante (FD), que é definido como o maior folículo ovariano que é recrutado e selecionado durante uma onda folicular, enquanto os outros seguem no processo de atresia. A atividade do FD é capaz de prevenir o recrutamento de outros folículos no ovário onde, por meio de mecanismo de retroalimentação negativa, em que, o estradiol e a inibina, produzida pelo FD, diminuem as concentrações de FSH circulante, e desta forma impedem o aparecimento de uma nova onda de crescimento folicular. Com a queda dos níveis circulantes de FSH apenas os folículos que apresentam maior número de receptores para LH conseguem evoluir. Dentre eles está o folículo destinado a ser o folículo ovulatório que apresenta o maior número de receptores para LH entre todos os outros folículos (subordinados) e que consegue sobreviver sem FSH (BARUSELLI e MADUREIRA, 2000).

Conforme o folículo dominante cresce, produz maior quantidade de E_2 . Quando a concentração de E_2 alcança um limiar, libera uma onda de GnRH, a qual estimula a liberação do pico de LH, ocasionando a ovulação. Isso só ocorre quando não há presença de P_4 , produzida pelo CL, que possui efeito inibidor da onda de GnRH (SENGER, 2003). Desta forma, os folículos dominantes que se desenvolvem durante a fase luteal sofrem atresia e durante a fase folicular, onde não há predominância da progesterona, o folículo dominante continua o seu desenvolvimento até a ovulação. Depois da ovulação, o LH causa a luteinização das células foliculares rompidas para formar o corpo lúteo. O CL é responsável por produzir a progesterona que prepara e mantém o útero para a prenhez. A P_4 é

fundamental no controle do ciclo estral, pois tem efeito inibitório na liberação da onda de GnRH. Sem a onda de GnRH não há o pico de LH não ocorrendo o estro e a ovulação. Porém, ainda há liberação basal de GnRH e FSH permitindo o desenvolvimento folicular (BÓ et al., 2000).

A alteração de folículos ovarianos durante o ciclo estral em vacas é regulada pela concentração de P_4 no plasma, agindo via retroalimentação negativa na secreção de LH e que a baixa frequência dos pulsos de LH, característicos da fase luteal, não é suficiente para manter o crescimento contínuo e o FD funcional (ALMERAYA, 2010).

O folículo dominante de qualidade gera um CL funcional, que é responsável pela duração do ciclo estral, sendo a luteólise o principal fator para que ocorra a ovulação. Após a luteólise, ocorre diminuição nas concentrações circulantes de P_4 e com isso desfaz-se a retroalimentação negativa com o LH, e a partir de então começa aumentar a frequência dos pulsos de LH que estimula o desenvolvimento final do folículo dominante. Sob influência do aumento na frequência e baixa amplitude de pulsos de LH, o FD inicia a fase de crescimento pré-ovulatório, resultando em subsequente aumento na produção de andrógenos e estrógenos. O aumento na produção de E_2 estimula o comportamento de cio e provoca uma onda de FSH e LH, responsável pela ovulação (BARUSELLI e MADUREIRA, 2000).

2.3 Anestro pós-parto

No período pós-parto, a fêmea bovina necessitará evoluir de forma a permitir que suas funções hormonais e reprodutivas estejam normalizada o mais breve possível, a partir de uma sequência de alterações endócrinas e físicas do aparelho reprodutivo. Deste modo, a probabilidade da vaca conceber durante esse período, permitirá alcançar o sucesso da bovinocultura e o objetivo econômico da exploração, atingindo a meta de um bezerro/vaca/ano (HORTA, 1995). Levando em consideração os 30 a 60 dias de recuperação da capacidade reprodutiva depois do parto, as fêmeas bovinas dispõem de um ou dois cios apenas para emprenhar e manter o intervalo entre partos de 12 meses (BÓ et al., 2004).

A reestruturação do trato genital e o retorno à atividade cíclica ovariana são de fundamental importância para que se possa haver uma nova gestação. Eventos

como expulsão do tecido placentário, redução do volume uterino, perda de líquidos e restituição tissular devem ocorrer fisiologicamente. A involução uterina ocorre de forma precoce nas vacas primíparas e em vacas em lactação quando comparada as vacas múltiparas, e normalmente, se completa entre a quarta e quinta semana após o parto. No entanto, problemas como distocias, retenção de placenta e infecções uterinas podem retardar esta involução (DE CASTRO, 2002).

O tempo necessário para a involução uterina varia de quatro a seis semanas (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A eliminação do tecido caruncular acontece cerca de 14 dias após o parto e a regeneração do epitélio que recobre as carúnculas, se completa 30 dias após o parto (GREGORY; ROCHA, 2004).

Hormônios como a ocitocina e $PGF_{2\alpha}$ possuem grande influência sobre a involução uterina, pois estes hormônios atuam auxiliando na regulação da contratilidade do útero e na perda e reparação dos tecidos. As concentrações circulantes de ocitocina aumentam marcadamente logo após o parto, causada pelo estímulo de mamada que o bezerro exerce. A involução uterina inicia-se, ou está determinada pela síntese de prostaglandina que, por sua vez, é regulada pelo estrógeno e cortisol fetal (BÓ et al., 2008).

Vacas no período pós-parto e novilhas na fase pré-púbere podem não ovular no primeiro ciclo, caracterizando uma condição denominada anovulatória, apresentando características fisiológicas semelhantes. Nestes casos, o crescimento folicular ultrapassa a fase de divergência e atinge a dominância. No entanto, não ocorre ovulação devido à baixa frequência nos pulsos de LH, em decorrência das baixas concentrações desse hormônio armazenado na hipófise, conseqüentemente, há perda da dominância, atresia do folículo dominante e emergência de uma nova onda de crescimento folicular (STAGG et al., 1995; GONÇALVES et al., 2004).

Segundo Bó et al. (2003), para que ocorra a ovulação do folículo dominante no início do pós-parto, a frequência dos pulsos de LH deve ser de aproximadamente um pulso por hora. A ausência ou a inadequada pulsatilidade de LH faz com que essas estruturas não se desenvolvam além do diâmetro da divergência folicular.

Adicionalmente, segundo Wiltbank et al. (2002), animais zebuínos podem apresentar deficiência de FSH no período pós-parto. Ruiz-Cortez e Olivera-Angel (1999), verificaram que folículos de vacas zebuínas não alcançavam diâmetros superiores a 6 mm durante o anestro pós-parto. Contudo, em estudos posteriores sobre a divergência folicular em vacas Nelore (GIMENES et al., 2005; SARTORELLI

et al., 2005; CASTILHO et al., 2006) foi constatado que o folículo de vacas *Bos indicus* atingem a dominância em torno de 6 mm de diâmetro, menor do que o relatado para *Bos taurus* (8,5 mm). Portanto, condições anovulatórias frequentemente verificadas em zebuínos não parecem estar associadas à deficiência de FSH, que promove o crescimento até a divergência. Sendo assim, como já citado, o anestro pós-parto em vacas zebuínas e mestiças está ligado ao comprometimento da liberação de LH, responsável pela continuidade do crescimento e indução da ovulação do folículo dominante.

Outro fator associado as vacas no início do pós-parto são os reduzidos números de receptores de FSH e LH presente nos folículos ovulatórios. Este fato está associado aos corpos lúteos de vida curta e conseqüentemente, os ciclos estrais de curta duração (BRANDEN et al., 1989). Esta ocorrência de ciclo curto no início da puberdade ou no restabelecimento da ciclicidade no pós-parto parece estar associada à ovulação sem prévia exposição à progesterona devido a lise precoce do corpo lúteo.

Resultados apontam que o segundo ciclo estral posterior ao ciclo de curta duração apresenta duração fisiológica, indicando que a exposição à progesterona antes da ovulação é um fator decisivo na duração do subseqüente corpo lúteo (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2008a). Murphy et al. (1990) relataram ciclo de menor duração no período pós-parto. Neste contexto, Stagg et al. (1998) verificaram que na primeira ovulação após o parto em vacas leiteiras, há ocorrência de ciclos curtos, menor que 16 dias, em até 85% das vacas.

O prolongado anestro pós-parto também pode ser influenciado pela intensidade do balanço energético negativo (BEN) em bovinos, pois as vacas em lactação atingem o pico de produção de leite antes da máxima ingestão alimentar (BARBOSA, 2009). Desta forma, o balanço energético negativo pode reduzir a eficiência reprodutiva atrasando desta forma o primeiro serviço, período compreendido entre o parto e a primeira concepção fértil (THATCHER et al., 2001).

Uma das principais causas de anestro no rebanho bovino brasileiro está associada a subnutrição, e se tratando de protocolos hormonais para induzir a ciclicidade em vacas no anestro pós-parto, não se pode extrapolar para o Brasil os resultados positivos destes protocolos obtidos em outros países, uma vez que estes possuem melhores condições de manejo (FERREIRA, 2010). Neste cenário de nutrição inadequada no pós-parto, os folículos iniciam seu crescimento chegando no

máximo a 4 mm de diâmetro, não atingindo portanto as fases de seleção e dominância, e nestas condições, eles não são responsivos a tratamentos hormonais (PETER et al., 2009)

A amamentação, principalmente em bovinos de corte (GARCIA-WINDER, 1986) aumentam o efeito inibitório do E₂ na secreção de GnRH pelo hipotálamo durante o anestro pós-parto. Isto acarreta em redução dos pulsos de LH e falha no crescimento folicular final. A menor frequência de pulsos de LH impede a ocorrência do pico pré-ovulatório de E₂, GnRH e LH, e, conseqüentemente, a ovulação (YAVAS e WALTON, 2000).

O estresse ambiental como o clima, a alta densidade populacional, ou o excessivo manejo durante o período pré-cobertura podem deprimir o estro, a ovulação, e a função luteínica (HAFEZ e HAFEZ, 2004). O estresse por calor compromete eventos reprodutivos pela diminuição da expressão do comportamento do estro, alteração do desenvolvimento folicular e inibição do desenvolvimento embrionário (HANSEN e ARÉCHIGA, 2000). Vacas holandesas expostas ao estresse por calor, com média diária de temperatura máxima > 29°C de 20 a 50 dias antes da inseminação artificial, apresentaram taxa de gestação menor (23% vs 31,3%) que vacas não expostas a essa condição ambiental (CHEBEL et al., 2004).

2.4 Exposição uterina à progesterona

Os principais efeitos da progesterona está na regulação do ciclo estral, no desenvolvimento folicular e na regulação da ovulação (MORI et al., 1977). No entanto, existem receptores de progesterona encontrados em partes do tecido uterino (ARAKAWA et al., 1989), na glândula mamária (HASLAM e SHYALAMA, 1981) e no hipotálamo e na hipófise (KATO e ONOUCHI, 1977). O eixo hipotalâmico-hipofisário tem importante função na retroalimentação regulatória dos hormônios esteroides das gônadas, como a progesterona, que possui também receptores de andrógenos e estrógenos (NOAKES, 2001).

O início da ciclicidade em vacas em anestro pós-parto, assim como em novilhas pré-púberes, são desencadeados pelo aumento da liberação dos pulsos de hormônio luteinizante pela hipófise anterior, e o hormônio liberador de gonadotrofinas, produzido no hipotálamo, é o responsável por este mecanismo (DAY

et al., 1987). A pulsatilidade do LH ocorre paralelamente aos pulsos de GnRH, que por sua vez é controlado pela secreção de E_2 e P_4 (SCHAMS e BERISHA, 2002). Existe um contraste no sistema de secreção dos hormônios sintetizados e armazenados na hipófise anterior, responsáveis pelo crescimento e maturação folicular. O sistema de secreção do LH é dependente da pulsatilidade de GnRH, enquanto a secreção do FSH parece ser regulada por dois mecanismos, um com controle basal e outro com controle pulsátil, que confere ao FSH uma certa independência em relação aos pulsos de GnRH (PADMANABHAN e McNEILLY, 2001).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos referente a importância da progesterona sobre a fertilidade. Elevadas concentrações deste hormônio, antes ou depois da inseminação artificial, estão associados com a melhoria nas taxas de prenhez em vacas. Tem-se demonstrado que, vacas em anestro pós-parto utilizando dispositivo intravaginal de progesterona mantêm o padrão de crescimento dos folículos dominantes semelhante ao observado em vacas cíclicas, permitindo assim que estes folículos atinjam sua fase final de maturação, seguida de ovulação e formação de um corpo lúteo de duração normal (YAVAS e WALTON, 2000).

Cabral et al. (2013) induziram a ciclicidade de novilhas de corte em anestro após tratamento com implante intravaginal de progesterona associado ao benzoato de estradiol em 65,89% das novilhas tratadas. Em estudo semelhante, Sá Filho (2010) evidenciou que a suplementação de P_4 , nas vacas em anestro, promoveu alterações proliferativas potencialmente importantes para que o endométrio tenha capacidade secretória adequada à manutenção da gestação. Os diversos mecanismos de ação da P_4 evidenciam que a mesma pode estimular a proliferação celular no útero, dependendo do tipo celular ou contexto fisiológico (GRAHAM e CLARKE, 1997). Neste sentido, Sá Filho et al. (2010) ao trabalharem com vacas em anestro pós-parto sugeriram que a pré-exposição com P_4 intravaginal proporcionam aumento das células epiteliais do lúmen e das glândulas endometriais, favorecendo o ambiente uterino a estar mais propício para receber o embrião e reduzir o risco de luteólise prematura.

Segundo hipótese levantada por Day e Anderson (1998), a pré-exposição com progesterona reduz a expressão do hipotálamo aos receptores de estrógeno, diminuindo portanto, a ação da retroalimentação negativa do E_2 na secreção do GnRH. Vasconcelos et al. (2004), ressaltaram que o emprego de dispositivos

intravaginais contendo progesterona em protocolos de indução da ciclicidade para vacas em anestro, proporciona maior taxa de prenhez à primeira inseminação artificial. Cooper et al. (1991) e Fike et al. (1997), evidenciaram que a pré-exposição com progesterona em vacas no período de anestro pós-parto diminui os casos de ciclos de curta duração após a indução da ovulação.

Analisando dados referentes a dinâmica folicular, alguns autores sugeriram que o tratamento com progestágenos nas vacas em anestro aumentariam a expressão de receptores de LH nas células foliculares (RHODES et al., 2002), potencializando os efeitos dessa gonadotrofina e elevando a frequência de secreção de LH pela hipófise anterior.

Em bovinos, cerca de 40% das perdas gestacionais ocorrem entre o 8º e o 16º dia de gestação (considerando a ovulação como o dia 0), devido as falhas no reconhecimento materno da gestação. Um dos fatores para estas perdas são as baixas concentrações de progesterona, apontadas como um fator causador para as baixas taxas de concepção observadas em vacas leiteiras de elevada produção devido ao seu alto grau de ingestão alimentar e consequente metabolismo mais acelerado (DISKIN e MORRIS, 2008).

Elevadas concentrações de P_4 circulante no período pós-concepção imediato foram associadas ao aumento no alongamento do concepto (CARTER et al., 2008) e ao aumento na produção de interferon-tau ($IFN-\tau$) (MANN e LAMMING, 1999; MANN; PAYNE e LAMMING, 2001; MANN et al, 2006). O $IFN-\tau$ é secretado em grandes quantidades pelas células trofoblásticas do concepto de ruminantes na fase de alongamento do embrião (GRAY et al., 2002), possui efeito antiluteolítico e mantém a secreção de P_4 essencial para a manutenção do ambiente uterino suportando assim, os eventos do seu desenvolvimento (SPENCER et al., 2004). Altas concentrações de P_4 também foram associadas à maiores taxas de prenhez em bovinos e ovinos (STRONGE et al., 2005; McNEILL et al., 2006).

Avaliando os efeitos dos níveis plasmáticos de P_4 sobre a taxa de prenhez em protocolos de IATF, Cunha et al. (2008) registraram 37,1% e 51% para os grupos com baixas e altas concentrações circulantes de P_4 respectivamente. Neste mesmo contexto MEHNI et al., (2012) ao avaliarem os efeitos de implantes de P_4 após a inseminação artificial em vacas holandesas, encontraram melhores índices de prenhez em vacas tratadas (56%) em comparação ao controle (25%).

2.5 Inseminação artificial em tempo fixo

A biotécnica da IATF consiste na utilização de substâncias hormonais com o objetivo de sincronizar e induzir o estro e a ovulação para realização da inseminação artificial em tempo pré-determinado. Como vantagens da IATF destaca-se a eliminação da necessidade de observação de cio; evita inseminações das vacas fora do momento certo, diminuindo o desperdício de sêmen, material e mão de obra; induz a ciclicidade de vacas em anestro transicional, permitindo a inseminação dessas fêmeas; diminui o intervalo entre partos, aumentando o número de bezerros nascidos; possibilita a programação das inseminações em curto período; concentra o retorno do estro das fêmeas vazias após a primeira inseminação em tempo fixo, facilitando o diagnóstico de cio no repasse; possibilita altas taxas de prenhez no início da estação de monta; concentra mão de obra, diminuindo o número de horas extras com inseminadores; diminui o descarte e custo de reposição de matrizes do rebanho e diminui o investimento na compra de touros (BARUSELLI, 2004).

Várias substâncias hormonais são utilizadas para induzir a puberdade em novilhas e sincronizar o estro em vacas e novilhas de corte e de leite, e, desta forma aumentar a eficiência reprodutiva destes animais (CASTILHO et al., 2000; BRAGANÇA et al., 2004; VOGG et al., 2004). O crescimento folicular pode ser induzido com o emprego de diferentes hormônios tais como a P_4 , o E_2 e a combinação destes, e também com a eCG e seus análogos (THATCHER et al., 2001).

2.6 Hormônios utilizados na inseminação artificial em tempo fixo

2.6.1 Progesterona

A P_4 é um hormônio que atua na regulação do funcionamento do sistema reprodutor feminino, sendo secretada pelas células luteínicas do corpo lúteo. Assim como os estrógenos, é derivada do colesterol, sendo também secretada pela placenta, testículos e córtex adrenal em pequenas quantidades. As concentrações de P_4 permanecem elevadas durante toda a vida funcional do CL, o que é importante

para o desenvolvimento embrionário e para a manutenção da gestação, além de bloquear também as ondas de LH e a ovulação (WOAD e ARMSTRONG, 2002).

A administração exógena de P_4 , empregada para induzir e sincronizar o estro mimetiza seus efeitos biológicos, dentre os quais a supressão do estro, a inibição do pico pré-ovulatório de LH (que simula a fase luteínica do ciclo) e a regulação da secreção pulsátil de LH. Este processo leva ao desenvolvimento de ondas foliculares (LARSON e BALL, 1992), associadas à maturação folicular e ovulação nos dias seguintes ao seu emprego (ODDE, 1990), uma vez que, a supressão do tratamento progestacional leva à ocorrência do pico de LH (KESNER et al., 1982).

As tentativas iniciais em sincronizar o estro em fêmeas bovinas utilizando progestágenos baseavam-se no entendimento de que a P_4 previne a ocorrência de estro e ovulação (CHRISTIAN e CASIDA, 1948), atuando sobre o hipotálamo e regulando a liberação de GnRH (MIHM e AUSTIN, 2002) e, conseqüentemente, do LH. Essas tentativas baseavam-se no tratamento com progestágenos por tempo prolongado, de 14 a 21 dias, tempo necessário para que houvesse luteólise naturalmente, que seria efetivo para a sincronização do estro. Entretanto, a fertilidade deste estro sincronizado é reduzida (ODDE, 1990), ao contrário do que se acreditava. Este efeito ocorre porque a utilização da progesterona por períodos maiores que 13 dias levam à formação de folículos dominantes de maior tamanho (CUSTER et al., 1994; KINDER, 1996) e de reduzida fertilidade. A baixa fertilidade pode ser atribuída à maturação espontânea do ovócito (rompimento da vesícula germinativa e expansão do *cumulus*), presente no folículo persistente (REVAH e BUTLER, 1996).

Para evitar esses problemas de persistência folicular, entende-se que é necessário que o tratamento com progestágenos não seja muito prolongado. A administração contínua de progesterona por cinco a nove dias inibe a liberação de LH, e, quando há a interrupção de seu fornecimento, uma onda de LH capaz de induzir o crescimento final do folículo pré-ovulatório é desencadeada, culminando com a ovulação (MORAES et al., 2001).

Grande número de progestágenos sintéticos têm sido utilizados na prática da sincronização do ciclo estral, como: acetato de clormadinona (CAP) e acetato de flurogesterona (FGA). No entanto, os mais utilizados são o acetato de melengestrol (MGA), norgestomet e o acetato de medroxiprogesterona (MAP), todos bastante eficazes como sincronizadores de estro.

O MGA é um progestágeno de administração oral que deve ser fornecido juntamente com a alimentação, com a finalidade de evitar a ocorrência de luteólise prematura, ciclos curtos (SÁ FILHO et al., 2007), suprimir o estro, a ovulação e sincronizar o ciclo estral (PATTERSON et al., 1989). A administração de 0,5 mg / dia durante oito dias de MGA inibiu sinais de estro, pico pré-ovulatório de LH e a ovulação em novilhas durante o período de ingestão, no entanto o fornecimento por períodos superiores a 10 dias, quando não há um corpo lúteo funcional, pode levar a formação de folículo persistente, reduzindo assim a fertilidade (IMWALLE et al., 2002). Algumas vantagens do MGA estão na sua fácil administração, baixa toxicidade e custo reduzido quando comparado a outros progestágenos, entretanto alguns autores afirmam que o MGA é ineficiente, não possuindo respostas satisfatórias nas taxas de ovulação e concepção em vacas no anestro pós-parto (PERRY et al., 2002). Quando comparado ao dispositivo intravaginal de progesterona (DIV P₄) em vacas no pós-parto, o MGA apresentou menor proporção de vacas com ciclo estral de duração normal, ou seja, maior proporção das vacas tratadas com MGA apresentaram ciclo estral de curta duração quando comparado ao DIV P₄ (PERRY et al., 2004).

O norgestomet é um progestágeno sintético que é utilizado na forma de implante auricular por via subcutânea, contendo 6 mg (SYNCROMATE B[®]) na matriz de acrílico ou 3 mg (Crestar[®]) na matriz de silicone do princípio ativo. A introdução do implante está associada também a administração intramuscular de 5 mg de valerato de estradiol e 3 mg de norgestomet (BECALUBA, 2006). Estudos compararam a eficiência de ambas matrizes, de acrílico e silicone, na eficiência de liberação do norgestomet, e determinou que os implantes de silicone possuem padrão mais constante e homogêneo ao longo do período utilizado em relação ao de acrílico. Este resultado interferiu expressivamente na taxa de prenhez das vacas que receberam o implante auricular de silicone, que foi 19% superior em relação as fêmeas que receberam o implante de acrílico (KESLER e FAVERO, 1995).

O MAP é comumente utilizado na sincronização do ciclo estral na forma de dispositivos intravaginais, sendo eles compostos de pessário de poliuretano (buchas) ou a base de silicone. Atualmente no mercado encontra-se diferentes tipos de dispositivos intravaginais, compostos principalmente de silicone e com concentrações variadas de progesterona, dentre eles DIB[®], SINCROGEST[®], PRIMER[®], CRONIPRES[®] (1 g), PRID[®] (1,55 g), CIDR[®] (1,9 g), etc. Uma vez que a

mucosa vaginal tem a capacidade de absorver aproximadamente 0,5 a 0,6 mg de progesterona ao dia e estes dispositivos ficam em contato com a mucosa vaginal por oito dias em média, de acordo com o protocolo empregado, estes dispositivos podem ser reutilizados por até duas vezes (BECALUBA, 2006). Os pessários de silicone, geralmente em forma de "T", são mais eficientes acarretando em menores perdas (8,3%) quando comparado aos de poliuretano (23,1%; VIANNA et al., 2008).

Com a finalidade de reduzir os custos dos protocolos hormonais para a sincronização do ciclo estral, alternativas como a reutilização dos dispositivos de progesterona vem sendo utilizada. Os implantes intravaginais de progesterona são reutilizados após serem devidamente higienizados. Peixoto Júnior e Ulian (2007) avaliaram a reutilização do implante auricular Crestar[®] na taxa de prenhez de vacas de corte, onde não encontraram diferenças entre os tratamentos, obtendo 72,55% e 64,55% utilizando um ou dois implantes de segundo uso respectivamente. Almeida et al. (2006), também não encontraram diferença ao avaliar a taxa de prenhez à IATF com implante Crestar[®] novo (49,1%) ou reutilizado (50%). Rocha et al. (2007) ao reutilizarem DIV P₄ DIB[®] por até duas vezes em vacas Nelore, encontraram taxas de prenhez de 50,06%, 56,52% e 52% para implantes novos, reutilizados uma vez e duas vezes respectivamente. De La Ossa (2007) avaliou a utilização de implante intravaginal de progesterona CIDR[®] novo, de segundo uso e terceiro uso, encontrando 54,8%, 62,5% e 53,1% nas taxas de prenhez respectivamente.

Implantes reaproveitados também são utilizados na indução do estro e sincronização em novilhas pré-púberes. Cabral et al. (2013), avaliaram a utilização de DIV P₄ (Sincrogest[®]) de quarto uso em novilhas e encontraram taxa de manifestação de cio de 60,84% e taxa de fertilidade de 57,34% ao final da estação de monta. Colazo et al. (2004) e Rodrigues et al. (2009) afirmam que a reutilização de implantes de progesterona é uma alternativa viável para antecipar a puberdade em novilhas e obtiveram taxas de prenhez de 45,6% para novilhas Angus e 31,57% para novilhas Nelore com implantes de quarto uso.

2.6.2 Estrógeno

O 17 β estradiol é um hormônio produzido pelas células da granulosa de folículos em crescimento. São substâncias derivadas do colesterol e seus

precursores imediatos são androstenediona e testosterona. As respostas teciduais induzidas pelos estrógenos incluem a estimulação do crescimento glandular endometrial, a estimulação do crescimento de ductos na glândula mamária, o aumento na atividade secretora dos ductos uterinos, a indução da receptividade sexual, a regulação da secreção de LH e FSH pela glândula pituitária anterior, a regulação da liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo útero não gravídico e gravídico e o anabolismo proteico (SOUZA et al., 2011).

O E_2 endógeno produzido pelos folículos ovarianos acentua a amplitude dos pulsos de LH durante a fase folicular do ciclo estral pelo aumento de receptores do hormônio liberador de LH na pituitária anterior e do conseqüente aumento da capacidade estrogênica dos folículos pré-ovulatórios (STUMPF et al., 1993). Esse mecanismo de retroalimentação positiva entre o E_2 e o LH é crítico no processo de maturação final do folículo ovulatório, induzindo o comportamento estral e a ovulação (FIKE et al., 1997).

A administração de E_2 exógeno 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 E_2 estimula a liberação de LH para que ocorra a ovulação. Mas, ao contrário, elevadas doses de E_2 , na presença de elevadas concentrações de progesterona, bloqueiam as gonadotrofinas, suprimindo um eventual folículo dominante que pode levar à emergência de uma nova onda folicular (BÓ et al., 2004; MADUREIRA et al., 2009).

O E_2 foi introduzido nos protocolos de sincronização de estros de curta exposição à progesterona com o intuito de aumentar a retroalimentação negativa às gonadotrofinas, permitindo melhor sincronização da onda folicular (YAVAS e WALTON, 2000). A administração de E_2 , no início do protocolo de IATF, juntamente com a inserção do dispositivo de liberação lenta de progesterona, inibe a secreção tanto de LH quanto de FSH por retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (CLARKE, 1988; MARTINEZ et al., 2003).

Atualmente, vários compostos sintéticos que possuem as mesmas atividades biológicas dos estrógenos naturais foram desenvolvidos e têm sido frequentemente empregados em programas reprodutivos com a finalidade de acarretar sincronização das ondas foliculares, a ovulação do folículo dominante e a indução de estro. Os estrógenos mais utilizados com esta finalidade são o 17 β -estradiol (E_2) e os ésteres de estradiol, como o Benzoato de estradiol (BE), Valerato de estradiol (VE) e

Cipionato de estradiol (CE). Todavia, somente a molécula de 17 β -estradiol é biologicamente ativa. Os ésteres de estradiol (BE, VE e CE) precisam liberar o 17 β -estradiol da sua estrutura por meio da ação da enzima esterase, no fígado.

A maior diferença entre esses compostos é a meia-vida após a administração. A duração da meia-vida é maior em ordem crescente: E₂, BE, CE e VE. A administração de uma única injeção de VE (5 mg) resulta na elevação da concentração plasmática de estradiol por um período de cinco a sete dias (BÓ et al., 1993), sendo que uma única injeção de E₂ (5 mg) resulta na elevação plasmática de estradiol por apenas 42 horas. Todos os diferentes tipos de ésteres de estradiol, incluindo BE, CE e VE são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (BÓ et al., 1995).

2.6.3 Prostaglandina

As prostaglandinas, assim como os leucotrienos e tromboxanos, são moléculas derivadas dos ácidos araquidônico e linoleico. Os efeitos das diferentes prostaglandinas (PGF_{2 α}) na reprodução dos animais domésticos são amplos, podendo atuar no desenvolvimento folicular, na ovulação, na regressão luteal, na implantação e na manutenção da gestação, do parto e da fisiologia puerperal (WEEMS et al., 2005). A PGF_{2 α} e seus análogos sintéticos são utilizados na sincronização do ciclo estral das fêmeas domésticas devido à sua ação luteolítica, que promove a vasoconstrição seguida de uma cascata apoptótica. Deste modo, a PGF_{2 α} e seus análogos têm sido os agentes farmacológicos mais utilizados nos programas para sincronização do estro em fêmeas bovinas (ODDE, 1990) e podem ser utilizados unicamente ou em associação com outros hormônios (THATCHER et al., 2002).

O sucesso do tratamento dependente da presença de um CL, visto que a ação da luteolisina é provocar a regressão morfológica e funcional dessa estrutura (RATHBONE et al., 2001) e, conseqüentemente, a queda das concentrações endógenas de progesterona. Este fato é seguido por aumento na secreção de gonadotrofinas e eventual ovulação. A queda nas concentrações de progesterona é rápida. Assim, a fertilidade, nestes casos, equivale à de um estro espontâneo, uma

vez que as concentrações hormonais (progesterona, estrógeno e LH) são basicamente as mesmas encontradas nos animais não tratados.

Nas fêmeas, com a lise do corpo lúteo, o estro aparece a intervalos de cinco ou mais dias, o que torna impraticável em programas de IATF (BÓ et al., 2002). Esta variação no intervalo da aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ ao estro e a ovulação é decorrente do estado de desenvolvimento dos folículos no momento do tratamento (MARTINEZ et al., 2003). Dessa forma, se o tratamento for realizado quando o folículo dominante está na fase final do seu crescimento, ou então no início da sua fase estática, a ovulação irá ocorrer dentro de dois a três dias. Por outro lado, se a $\text{PGF}_{2\alpha}$ for aplicada quando o folículo dominante estiver no meio ou no final da sua fase estática, a ovulação irá ocorrer cinco a sete dias mais tarde, após o crescimento do folículo dominante da próxima onda folicular (KASTELIC e GINTHER, 1991). Neste contexto, é necessário lembrar ainda, que tratamentos realizados até o dia 5 do ciclo estral (CL não maduro) não induzem efetivamente a luteólise (PARFET et al., 1989).

De acordo com Wiltbank (1975), existem algumas limitações para o emprego da prostaglandina. Primeiramente, a não resposta do CL inicial ao tratamento com o hormônio, podendo ser solucionada aplicando-se uma segunda dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ com um intervalo que permita todas as fêmeas apresentarem um CL responsivo e funcional. O intervalo recomendado é de 10 a 14 dias. Segundo, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ não induz o estro em vacas acíclicas. Em terceiro, as fêmeas manifestam estro em tempos variáveis, logo após o tratamento. Essa variabilidade no período de estro, como acima citada, é devida às diferenças entre fêmeas no crescimento folicular, e não às diferenças no período de regressão luteal.

Teoricamente, duas aplicações de prostaglandina, com intervalos de 11 a 14 dias, induzem o estro em grande parte das fêmeas ciclando, enquanto que fêmeas em anestro ou ciclando irregularmente não respondem ao tratamento. Nesse sentido, tais programas nem sempre proporcionam alto grau de sincronização ou alta taxa de prenhez (BARROS, 2000). Todavia, mesmo após a aplicação de 2 doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$, tem sido observada grande variação na detecção do estro e na ovulação, tanto em *Bos taurus*, quanto em *Bos indicus*. Este dado indica que o tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$ sincroniza eficientemente o momento da luteólise e não o estágio de desenvolvimento do folículo ovulatório. Assim, protocolos para IATF, apenas com a utilização de prostaglandina, não têm apresentado bons resultados. Então, torna-se necessário, o emprego de métodos que controlem o

desenvolvimento luteínico e folicular para sincronizar o crescimento dos folículos e a ovulação.

2.6.4 Gonadotrofina coriônica equina

O hormônio gonadotrofina coriônica equina (eCG), também denominado gonadotrofina do soro de égua gestante (PMSG), é uma glicoproteína produzida pelos cálices endometriais de éguas, entre os dias 40 e 120 de gestação (GINTHER, 1979).

Em relação a outros hormônios gonadotróficos, a eCG apresenta a singularidade de possuir atividade folículo estimulante e luteinizante na mesma molécula (PAPKOFF, 1974). Devido à sua dupla ação (como FSH e LH), a eCG atua estimulando de forma direta o desenvolvimento folicular e a ovulação. O implante de progesterona inibe a liberação destes pela hipófise, diminuindo o desenvolvimento folicular e a ovulação até o momento desejado. Com a retirada do implante, a concentração de progesterona sérica cai rapidamente e com isso, o animal apresenta estro. A administração de eCG, neste caso, estimula o desenvolvimento folicular e potencializa a ação sincronizante dos progestágenos. Isso se mostra importante frente ao diâmetro médio dos folículos no pós-parto apresentarem-se menores e sofrerem atresia antes de atingir o tamanho ideal para ovular (MURPHY et al., 1990; YAVAS e WALTON, 2000).

Quando a eCG é aplicada antes da retirada do progestágeno e em doses baixas, o folículo dominante adquire maiores dimensões após suspensão do tratamento com progestágeno (LOGUÉRCIO, 2005). Este aumento de dimensões provavelmente leva à melhora dos índices de prenhez por estimar maior desenvolvimento do corpo lúteo.

A partir desses e outros estudos posteriores e, com base nas propriedades da eCG, para criar condições de crescimento folicular e de ovulação, percebe-se que esta substância passa a ser empregada em programas de sincronização e/ou indução de estros nas variadas espécies. O seu emprego tem-se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, como em fêmeas em período pós-parto inferior a dois meses e/ou baixa condição corporal (BARUSELLI et al., 2004; DUFFY et al., 2004), como também, em novilhas pré-púberes e púberes

(BRANDÃO e SILVA FILHO, 2005). A adição de eCG no momento da remoção do implante de progesterona, utilizando diferentes progestágenos, é uma alternativa para aumentar as taxas de prenhez em programas de IATF com vacas em anestro ou com baixas condições corporais (BÓ et al.,2003; BARUSELLI et al., 2004; BÓ et al., 2004).

3. METODOLOGIA

3.1 Localização

O experimento foi conduzido de janeiro a julho de 2014 em propriedade particular localizada no Município de Dores do Rio Preto, Espírito Santo, situado nas coordenadas geográficas 20°41' Sul, 41°50' Oeste e a 774 m de altitude. O clima predominante da região é o tropical com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, temperatura média anual de 19,2 °C e precipitação pluviométrica entre 1.400 a 1.500 mm anuais.

3.2 Animais e manejo

Foram realizados dois experimentos, um analisou-se a dinâmica folicular e o outro avaliou-se a eficiência reprodutiva.

Para a análise da dinâmica folicular foram utilizadas 14 vacas híidas, lactantes, multíparas, sendo seis para o grupo controle (GC) e oito para o grupo tratamento (GT).

Para avaliar a eficiência reprodutiva, foi feita análise da taxa de prenhez. Foram utilizadas 78 vacas lactantes sem alterações ao exame ginecológico e ausência de sinais clínicos de doença metabólica ou infecciosa, distribuídas aleatoriamente nos grupos GC (n=39) e GT (n=39), sendo 25 primíparas (GC, n=12; GT, n=13) e 53 multíparas (GC, n=27; GT, n=26) com bom histórico de fertilidade, mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), entre 30 a 90 dias pós-parto, apresentando escore de condição corporal (ECC) $\geq 2,5$ (escala de 1 a 5), sendo o mesmo avaliado no início do experimento, conforme metodologia proposta por Edmonson et al. (1989).

Para avaliar a resposta ao tratamento dos grupos tratado e controle, em relação ao tempo de período pós-parto, as fêmeas foram divididas em dois grupos: as fêmeas que iniciaram os protocolos de IATF entre 30 e 60 dias pós-parto e as

fêmeas que iniciaram os protocolos de IATF entre 61 a 90 dias pós-parto, para posterior análise da taxa de prenhez.

As vacas eram mantidas em sistema extensivo de produção, com pastagem composta principalmente de braquiarião (*Brachiaria brizanta* cv. Marandu), sal mineral proteinado e água fornecidos *ad libitum*, silagem de milho e suplementação com concentrado (22% de proteína bruta) na proporção de 1 Kg / 3 L de leite.

3.3 Protocolos Experimentais

Foi analisado o efeito do protocolo hormonal, a base de progesterona e estradiol, para a pré-sincronização sobre a dinâmica folicular e a taxa de prenhez.

Para o grupo controle (GC) os animais receberam o seguinte protocolo para IATF: no dia zero (D0): inserção de dispositivo intravaginal (DIV¹) P₄ novo e aplicação intramuscular (IM) de 2 mg benzoato de estradiol² (BE); D8: retirada do DIV P₄, aplicação IM de 0,15 mg de cloprostenol sódico³ (prostaglandina) e aplicação IM de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina⁴ (eCG); D9: aplicação IM de 1 mg de BE e; D10: inseminação artificial dos animais (IA) 52h após a retirada do DIV P₄, conforme ilustrado na figura 2.

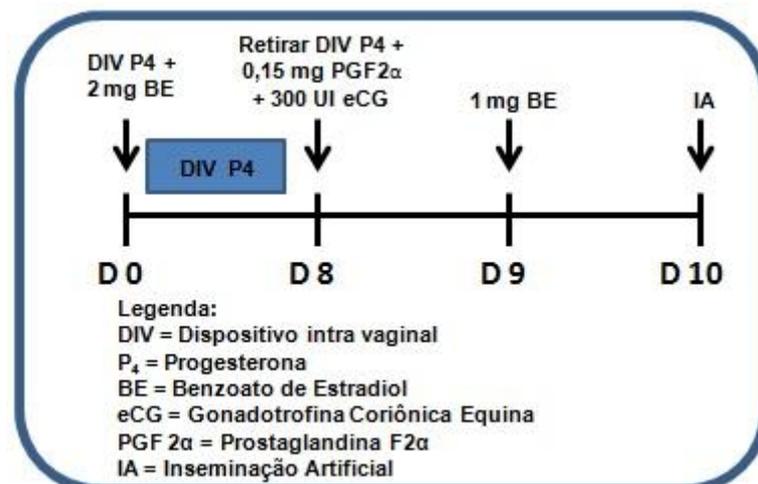


Figura 2 - Esquema ilustrativo do protocolo hormonal utilizado no grupo controle (GC).

¹ 1,0g de Progesterona, CRONIPRESS[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

² 1mg/mL Benzoato de Estradiol, BIOESTROGEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

³ 0,75 mg/ml d-Cloprostenol, CRONIBEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

⁴ 200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), SINCRO ECG[®], Ouro Fino, Brasil.

Para o grupo pré-sincronização hormonal (GT) a base de progesterona e estradiol, os animais receberam o seguinte tratamento: dia menos dezenove (D-19): inserção de DIV¹ P₄ previamente utilizado (4^o uso) e aplicação IM de 2 mg de BE²; D-11: retirada do DIV P₄ e aplicação IM de 1 mg BE; passados 11 dias da retirada do DIV P₄ de 4^o uso, iniciou-se o protocolo para IATF dos animais, idêntico ao GC, conforme ilustrado na figura 3.

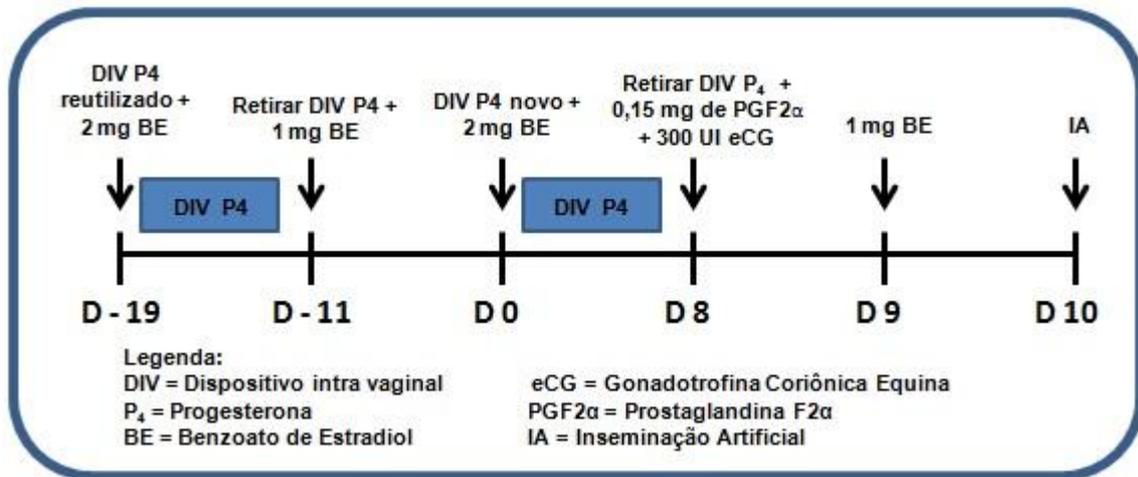


Figura 3 - Esquema ilustrativo do protocolo de pré-sincronização hormonal utilizado no grupo tratamento (GT).

3.4 Variáveis analisadas

Na análise da dinâmica folicular em ambos os grupos (GC e GT), os exames de ultrassonografia (US) foram realizados nos dias 0, 8 e a partir do dia da IATF (D10) foram realizados de 12 em 12 horas até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante, com aparelho portátil de ultrassonografia acoplado a transdutor linear retal 5,0 MHz (MINDRAY[®], modelo DP2200 VET).

A cada exame de US, os folículos foram classificados de acordo com o seu diâmetro em pequenos (FP < 6 mm), médios (FM de 6 a 8 mm) e dominantes (FD > 8 mm) e posteriormente contabilizados para cada fase. Foram analisadas: a taxa de crescimento folicular (mm / dia), calculada pela diferença entre os diâmetros do folículo dominante nos dias 10 e 8, dividido pelo número de dias em que foi feita a avaliação (D10-D8/2); o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IA (D10);

o intervalo em horas da retirada do DIV P₄ à ovulação e o intervalo em horas da IATF até a ovulação em cada grupo.

A taxa de ovulação foi calculada através do percentual de animais que responderam positivamente aos protocolos hormonais e ovularam.

A taxa de prenhez, determinada para o grupo tratado e controle de vacas primíparas e múltiparas, foi realizado 30 dias após a inseminação artificial por exame de ultrassonografia.

O sêmen utilizado foi proveniente de Central de Inseminação Artificial filiada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA) e as inseminações foram realizadas pelo mesmo inseminador.

Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa SAS Studio (2014) a 5% de probabilidade, em delineamento inteiramente casualizado. Para as variáveis com distribuição normal como diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento folicular, foi utilizado o teste t independente. Para as variáveis com distribuição não normal como número de folículos, intervalo da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona à ovulação, da inseminação artificial em tempo fixo à ovulação e a taxa de prenhez foram utilizados os testes de Mann-Whitney e qui-quadrado.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visto que os dispositivos intravaginais, mesmo após o terceiro uso, ainda possuem uma concentração residual de P₄ e, com a finalidade de reduzir os custos dos protocolos hormonais para pré-sincronização, o DIV P₄ utilizado foi de 4^o uso.

Com relação a dinâmica folicular de vacas multíparas, não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos em relação a média de números de folículos e dias de observação (Tabela 1). No entanto, como pode ser observado na tabela 1, a retirada do dispositivo de progesterona no dia 8 está relacionada a fase de divergência folicular onde ocorre a seleção do folículo dominante e os folículos subordinados entram em atresia. Este fato se explica pois, numericamente, há redução na variável número de folículos pequenos ($< 6\text{mm}$) quando comparado nos dias 0, 8 e 10, nos grupos controle e tratado.

Tabela 1 - Média e desvio padrão do número de folículos de acordo com a classificação em folículos pequenos ($< 6\text{ mm}$), folículos médios (entre 6 e 8 mm) e folículos dominantes ($> 8\text{ mm}$) nos grupos pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) de fêmeas mestiças em período pós-parto

		Média do número de folículos				
		Dia	$< 6\text{ mm}$	6 e 8 mm	$> 8\text{ mm}$	Total
GT	n=8	0	11,12 ± 2,47	0,25 ± 0,48	0,87 ± 0,37	12,24
		8	9,75 ± 1,30	0,12 ± 0,35	1,00 ± 0	10,87
		10	8,62 ± 1,68	0,12 ± 0,35	1,00 ± 0,53	9,74
GC	n=6	0	9,33 ± 6,34	0,66 ± 0,51	1,16 ± 0,40	11,15
		8	8,83 ± 3,18	0,22 ± 0,40	0,83 ± 0,00	9,88
		10	8,33 ± 3,82	0,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	9,33

Não houve diferença nas variáveis analisadas ($p=0,15$) pelo teste de Mann-Whitney.

Segundo Bó et al. (1994) a administração de benzoato de estradiol associado à inserção do dispositivo intravaginal de progesterona em protocolos de IATF, tem a finalidade de potencializar o efeito de supressão do crescimento do folículo dominante pelas elevadas concentrações circulantes de ambos os hormônios, destaca também que esse mecanismo está associado a supressão de FSH. Ainda, segundo Mackey et al. (2000), ao se tratar vacas em anestro pós-parto com progestágenos, pode-se reverter o efeito de retroalimentação negativa que o estradiol placentário exerce sobre o GnRH e LH, aumentando a frequência nos pulsos deste último e determinando assim a ovulação dos animais tratados.

Portanto, baseado nestes conceitos, verifica-se neste estudo que, ambos os tratamentos hormonais foram eficientes em sincronizar a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, corroborando aos estudos de Moreno et al. (2001), Oliveira (2009) e Nascimento (2009). Nota-se também que, com a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona no dia oito os folículos dominantes cresceram numericamente ou se mantiveram constantes, para os tratamentos GC e GT, respectivamente. Efeito inverso aconteceu com os folículos médios, pois à partir do dia oito eles se mantiveram constantes ou diminuíram numericamente para os tratamentos GT e GC, respectivamente, reafirmando a premissa que, com a seleção do folículo dominante os folículos subordinados entram em atresia. De acordo com Mackey et al. (2000), com a retirada do DIV P₄ pode-se induzir a frequência dos pulsos de LH, suficiente para estimular o crescimento final de folículos dominantes, a ovulação, o comportamento estral e reduzir os ciclos de curta duração em vacas no período pós-parto.

No presente trabalho não foi verificada diferença ($p > 0,05$) na taxa de crescimento folicular (mm / dia) e diâmetro do folículo no momento da IA (D10), entre os grupos tratamento e controle (Tabela 2). Os dois protocolos foram eficientes no desenvolvimento dos folículos ovulatórios em vacas mestiças com média de 12,52 mm e 11,99 mm para os tratamentos GT e GC, respectivamente.

Tabela 2 - Média e desvio padrão da taxa de crescimento folicular, diâmetro do maior folículo no dia 10/momento da inseminação artificial, intervalo da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona e da IATF à ovulação dos grupos pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) de vacas mestiças em período pós-parto

Item	Tratamento	
	GT	GC
Taxa de crescimento (mm/dia)	1,80 ± 0,24	0,79 ± 0,35
Diâmetro do folículo no D10/IA (mm)	12,52 ± 1,61	11,99 ± 2,26
Intervalo à ovulação (h)		
Retirada do DIV P ₄	65,25 ± 8,13	66,00 ± 10,03
IATF	14,15 ± 7,36	15,06 ± 9,04

Não houve diferença na taxa de crescimento folicular ($p=0,28$) e diâmetro do folículo no D10/IA ($p=0,17$) pelo teste t independente; Não houve diferença entre o intervalo à ovulação à retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (DIV P₄) ($p=0,32$) e intervalo à ovulação à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) ($p=0,32$) pelo teste de Mann-Whitney.

Apesar de não haver diferença ($p > 0,05$) na taxa de crescimento folicular, o grupo tratado se mostrou numericamente mais eficiente do que o grupo controle no presente experimento (1,8 mm e 0,79 mm, para os grupos tratado e controle respectivamente), demonstrando que, possivelmente, as vacas do GT possam ter sentido, em menor proporção, os efeitos sistêmicos negativos do anestro pós-parto que os animais do GC. Esta discrepância dos resultados pode estar associada a aplicação do estradiol no GT, pois segundo Fike et al. (1997) o estradiol estimula a produção de LH que é o responsável pela maturação final do folículo e ovulação. Ainda, de acordo com Branden et al. (1989) a presença do DIV P₄ pode ter regulado o ciclo estral no pós-parto das vacas submetidas ao GT, diminuindo os ciclos de curta duração, e aumentando o número de receptores de LH e FSH presente no folículo ovulatório.

A taxa de crescimento folicular para o grupo pré-sincronização hormonal deste estudo foi semelhante a registrada por Oliveira (2013) trabalhando também com vacas mestiças (1,5 mm / dia) com protocolo de IATF. Colazo et al. (2011), utilizando protocolos de pré-exposição hormonal em vacas *Bos taurus taurus* registraram 1,3 mm / dia e Murta (2011) registrou 1,4 mm / dia em animais *Bos taurus indicus*. Almeida Neto (2013) ao trabalhar com vacas mestiças encontraram 0,9 mm / dia. O crescimento folicular é dependente da secreção frequente de LH e, em condições de anestro e/ou pós-parto recente, a reprodução da vaca é afetada por efeitos sistêmicos: no hipotálamo por meio da síntese e liberação de GnRH; na adeno-hipófise pela síntese e liberação de FSH e LH; e nos ovários por meio da regulação do crescimento folicular e da síntese de estradiol e progesterona, interferindo portanto, nos eventos inerentes à dinâmica folicular, prolongando o intervalo parto concepção devido ao período prolongado de anestro (TANAKA et al., 2008).

O diâmetro do folículo dominante no momento da IA (folículo pré-ovulatório) é considerada uma característica importante em protocolos de IATF, pois está relacionado ao tamanho do corpo lúteo e consequente produção de progesterona no diestro subsequente, essencial para a manutenção da gestação após a fertilização (VASCONCELLOS et al., 2011).

Segundo Burke et al. (2001) o potencial ovulatório do folículo está ligado a maturidade e diâmetro ideal do folículo dominante no dia da retirada do implante de progesterona ou no dia da inseminação artificial, em protocolos de IATF.

Demonstrando que vacas de corte que apresentaram folículos de maior diâmetro ($13,8 \pm 0,4$ mm) ovularam em sua totalidade (100%), enquanto as vacas de menor diâmetro ($9,0 \pm 0,6$ mm) obtiveram número reduzido de ovulação (50%).

O diâmetro do folículo dominante registrado neste estudo para vacas mestiças no período pós-parto, em ambos os tratamentos, foi satisfatório, $12,52 \pm 1,61$ mm e $11,99 \pm 2,26$ mm para GT e GC respectivamente, demonstrando assim que em ambos os tratamentos os folículos adquiriram capacidade ovulatória. Sartori et al. (2001) demonstraram, em vacas *Bos taurus*, que 75% dos animais com folículos dominantes de até 10 mm não ovularam mesmo submetidos a aplicação de LH, diferente dos folículos de 12 mm que obtiveram 100% de ovulação. Estes autores concluíram que os folículos adquirem capacidade ovulatória com aproximadamente 10 mm de diâmetro em vacas *Bos taurus*. No entanto, de acordo com Gimenes et al. (2005), em vacas *Bos indicus*, o folículo dominante adquire capacidade ovulatória com diâmetro a partir de 7 a 8,5 mm. Resultados semelhantes à Gimenes et al. (2005) foram registrados por Sales et al. (2012) e Sá Filho et al. (2010) trabalhando com vacas Nelore. Trabalhando com vacas mestiças, Almeida Neto (2013) observou vacas com menor diâmetro de folículo dominante (9,75 mm).

No presente estudo, as vacas foram selecionadas previamente pelo escore de condição corporal (escala de 1 a 5), segundo metodologia proposta por Edmonson et al. (1989), onde apenas as vacas com $ECC \geq 2,5$ foram consideradas aptas para o experimento. Demonstrando portanto, que os animais utilizados estavam em condições favoráveis para realização de protocolos hormonais para a inseminação artificial em tempo fixo. Segundo Sá Filho e Vasconcelos (2008b) melhores condições metabólicas são acompanhadas por aumento gradativo do diâmetro do folículo dominante. Uma alternativa para se obter maior crescimento folicular e folículos dominantes de maior tamanho, em vacas no pós-parto, é manter a condição corporal adequada, sem extensa perda de peso nesta fase, pois vacas com melhores escores de condição corporal no pós-parto atendem melhor suas exigências nutricionais e apresentam menor sensibilidade do hipotálamo aos efeitos de retroalimentação negativa do estradiol, aumentando paulatinamente as concentrações sanguíneas de LH, responsável pelo crescimento final do folículo dominante e ovulação (BOSSIS et al., 2000).

No presente trabalho, não houve diferença ($p > 0,05$) entre o diâmetro do folículo dominante no momento da inseminação artificial entre os grupos tratado e

controle (Tabela 2). No entanto foi constatado maior média no diâmetro do grupo pré-sincronização hormonal ($12,52 \pm 1,61$ mm vs. $11,99 \pm 2,26$ mm), acompanhado de maiores taxas de prenhez (53,84% vs. 38,43%) quando comparado ao grupo controle. Segundo Perry e Perry (2008), folículos de maior diâmetro proporcionam maior concentração fisiológica de estradiol em momentos próximos a IA, influenciando positivamente a fertilização, pois o estradiol auxilia na redução do pH uterino facilitando assim o transporte dos espermatozoides e aumentando sua longevidade no momento da fertilização, fato este que explica a relação de maiores diâmetros foliculares no momento da inseminação artificial estar associado a maiores taxas de prenhez.

Estudos relacionam o tamanho do folículo no momento da retirada do dispositivo de progesterona com a taxa de prenhez. Silveira et al. (2011), trabalhando com protocolo de IATF em vacas de corte encontraram folículos de maior diâmetro para as vacas prenhas ($10,76 \pm 1,75$ mm) e de menor diâmetro para as vacas vazias ($8,53 \pm 2,45$ mm). Há também a relação do diâmetro do folículo dominante no dia da IATF com a taxa de prenhez. Neste contexto, Ribeiro Filho et al. (2013), encontraram média de diâmetro folicular para as vacas gestantes de $13,33 \pm 2,40$ mm e para as não gestantes de $11,27 \pm 2,75$ mm. Almeida et al. (2013), trabalhando com protocolo de IATF em vacas leiteiras mestiças encontraram taxa de prenhez de 76% e 34% para vacas com diâmetros ≥ 12 mm e < 12 mm respectivamente, no momento da IA. Medalha et al. (2014), avaliaram o grau de uso de implantes de progesterona, o diâmetro do folículo dominante no momento da IA e a taxa de prenhez, e encontraram $10,38 \pm 3,55$ mm, $11,78 \pm 3,54$ mm e $11,72 \pm 2,63$ mm para os implantes de primeiro, segundo e terceiro uso respectivamente, as taxas de prenhez foram de 55%, 63,7% e 60,2% respectivamente, não diferindo entre si.

Não houve diferença ($p>0,05$) em relação aos intervalos da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (Tabela 2) entre os grupos estudados. Segundo Roelofs et al. (2005) e Crepaldi (2009), a probabilidade de ocorrer concepção diminui à medida que a inseminação artificial se distancia do momento da ovulação, uma vez que, o momento mais propício para a realização da IATF está compreendido entre 12 à 24 horas antes da ovulação. Assim sendo, a inseminação artificial deve ocorrer nesse intervalo, para que o acesso dos espermatozoides ao óvulo seja maximizado, aumentando assim, as taxas de fertilização. Portanto, no presente estudo, os animais de ambos os grupos foram

inseminados dentro do momento propício para a fertilização, verificando o momento que ocorreu a ovulação. Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados por Oliveira (2013) ao trabalhar com vacas mestiças, nos intervalos de retirada do dispositivo de progesterona à ovulação (61h04min) e intervalo da IATF à ovulação (12h08min), entretanto Nascimento (2009) registrou valores inferiores no que diz respeito ao intervalo da retirada do DIV P₄ à ovulação (51h40min) e IATF à ovulação (3h04min).

O intervalo da IATF à ovulação registrados neste experimento foi de aproximadamente 14h para ambos os grupos (Tabela 2). Dalton et al. (2001) avaliando o momento mais propício para a inseminação artificial em vacas de leite, registraram taxas de fertilização de 66%, 74% e 82% para as inseminações ocorridas às 0, 12 e 24 horas após a detecção do estro, respectivamente, não havendo diferenças significativas entre elas. No entanto, ao analisarem a qualidade dos embriões recuperados notaram que a inseminação artificial ocorrida aproximadamente 12h após a detecção do estro apresentou melhores resultados nas taxas de embriões de melhor qualidade (ótimo e bom) e, conseqüentemente, menor quantidade de embriões degenerados, reafirmando que o melhor momento para a inseminação artificial é próximo de 12 horas após a observação do estro. Portanto, o intervalo de aproximadamente 14 horas, registrado no presente estudo, da realização da IATF à ovulação, nos grupos controle e tratado (Tabela 2), demonstra que houve eficiência dos dois protocolos hormonais em promover a ovulação no momento propício para que ocorresse a fertilização.

Em relação ao período pós-parto (PP) que se iniciou o tratamento hormonal nos grupos controle e tratado, não foi verificada diferença ($p > 0,05$) em relação a taxa de prenhez quando comparada entre os tratamentos e em relação os dias transcorridos do pós-parto (Tabela 3). Neste mesmo contexto, Silveira et al. (2010) também não verificaram diferenças significativas nas taxas de prenhez ao avaliarem o período de pós-parto precoce (28 - 44 dias) ou tardio (45 - 90 dias) de vacas de corte utilizando protocolos de IATF (40% e 48%, respectivamente). Resultados semelhantes foram registrados por Rossa et al. (2009) que também não observaram diferenças nas taxas de prenhez, quando compararam vacas de corte com menos de 45 dias de parida (47,22%) ou com mais de 45 dias de parida (41,93%).

Observou-se que no grupo pré-sincronização hormonal, as vacas com menor período PP (30 - 60 dias) obtiveram taxa de prenhez numericamente superior as

vacas com maior período PP (61 - 90 dias) (Tabela 3). Sabe-se que vacas híginas com maior período PP dispõem de maior tempo para recuperação uterina, restabelecimento do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal e ciclicidade de suas funções hormonais apresentando, com isso maior probabilidade de aumentar a taxa de prenhez quando comparadas a fêmeas inseminadas no início do pós-parto. No entanto, de acordo com o presente estudo, sugere-se que fêmeas com menor tempo decorrido do pós-parto também estão aptas a serem submetidas em programas de inseminação artificial em tempo fixo.

Tabela 3 - Taxa de prenhez (%) de vacas mestiças submetidas ao grupo pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) no período pós parto recente (30-60 dias) e pós parto tardio (60-90 dias)

GT		
Dias pós-parto	n	% Prenhez
30 - 60	18	61,11
61 - 90	21	47,61
GC		
30 - 60	23	30,43
61 - 90	16	50,00

Não houve diferença dos dias transcorridos do pós-parto em relação a taxa de prenhez ($p=0,40$) pelo teste de Mann-Whitney.

Não houve diferença ($p>0,05$) quando comparou-se as taxas de ovulação e as taxas de prenhez observadas entre os tratamentos (Tabela 4). No entanto, a taxa de prenhez obtida para o GT (53,84%) foi satisfatória devido ao baixo custo de implantação do protocolo para a pré-sincronização hormonal (R\$ 1,05). Resultados semelhantes foram observados por Nascimento (2009) que obteve 90% e 54,55% para as taxas de ovulação e prenhez respectivamente. Dados semelhantes foram registrados por Gomes (2013) que, ao trabalhar com protocolo de pré-sincronização a base de progesterona e estradiol em vacas Nelore, encontrou taxa de prenhez de 25% e 40% para vacas que ficaram expostas ao dispositivo intravaginal de progesterona por 6 e 3 dias, respectivamente. Nash et al. (2012) encontraram taxa de prenhez de 54% ao pré-sincronizar vacas Angus no início do pós-parto (média 47 dias) com DIV P₄.

Segundo Cavalieri e Fitzpatrick (1995), Firmino Neto et al. (1999) e Baruselli et al. (2004), o uso da eCG em vacas no período PP e amamentando, incrementa o aparecimento da onda de LH e, quando administrada juntamente com progesterona e estrógeno em protocolos de IATF, aumenta a resposta do estro em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade (anestro) e em animais em período pós-parto inferior a dois meses, fato que explica os resultados encontrados no presente experimento.

Tabela 4 - Taxa de ovulação (%) e taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos para o grupo pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) de vacas mestiças no pós-parto

Tratamento	Taxa de Ovulação (%)	Taxa de Prenhez (%)
GT	88,8	53,84
GC	75	38,46

Não houve diferença significativa na taxa de prenhez entre os tratamentos ($p=0,17$) pelo teste de Qui-quadrado.

Técnicas que visam a indução e/ou sincronização do estro no período pós-parto são fundamentais. Estes protocolos que utilizam progesterona associada a estrógeno possibilitam uma ação em conjunto, com o intuito de realizar modificações nas regulações hormonais mimetizando os eventos fisiológicos na fêmea bovina e propiciando que vacas em anestro retornem a ciclicidade e possam emprenhar mais precocemente no pós-parto.

Tratamentos hormonais que visam a pré-sincronização de vacas em período pós-parto recente, tem como objetivo induzir a ciclicidade de vacas em anestro, aumentar a velocidade em que os animais são inseminados neste período, diminuindo falhas na detecção do estro, facilitando o manejo, diminuindo o intervalo entre partos e, aumentando assim a eficiência reprodutiva. Sabe-se da importância de proporcionar altas concentrações de progesterona antes da IA, principalmente em vacas acíclicas, uma vez que a P_4 tem relação direta com a fertilidade (Mackey et al., 2000; Baruselli et al., 2004; Day, 2004).

Cunha et al. (2008) ao analisarem o efeito da concentração de progesterona antes da inseminação artificial em tempo fixo, encontraram taxas de prenhez de 37,1% em vacas submetidas à baixa concentração de progesterona e 51% para as vacas submetidas à altas concentrações de progesterona. Ainda, segundo estes autores, vacas com concentrações plasmáticas baixas de P_4 antes da IA

apresentaram maior perda gestacional (14,3%) em comparação a altas concentrações de P₄ (6,8%), portanto, o fornecimento prévio de progesterona é importante tanto antes como depois da inseminação artificial em tempo fixo. Como foi verificado neste estudo (Tabela 4).

Contudo, protocolos que usam como base a progesterona e o estrógeno vem se mostrando eficientes em induzir a ovulação (SÁ FILHO et al., 2010; SALES et al. 2012). Associado a estes hormônios, a eCG cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação, e seu uso tem apresentado efeito positivo em vacas recém paridas (BARUSELLI et al., 2008).

Quando comparadas as taxas de prenhez considerando a categoria das vacas, em primíparas e múltiparas, houve diferença ($p < 0,05$) entre estas categorias (Tabela 5). Verifica-se que, para as vacas múltiparas, a taxa de prenhez do grupo pré-sincronização hormonal (GT) foi maior quando comparada com as demais (69,23 e 44,44%, respectivamente). Pereira et al. (2011), ao trabalharem com protocolos de IATF em vacas com graus de paridade diferentes no pós-parto, também verificaram diferenças na taxa de prenhez entre as vacas primíparas (59%) e múltiparas (64%).

De acordo com Short e Adams (1988) há uma escala de prioridades para o uso de energia disponível por parte das vacas, sendo: 1) metabolismo basal; 2) atividades; 3) crescimento; 4) reservas de energia; 5) reprodução/prenhez; 6) lactação 7) reservas adicionais de energia; 8) ciclos estrais; e 9) reservas excedentes de energia. Segundo estes autores, vacas múltiparas já não demandam mais energia para crescer em comparação com as vacas primíparas, fato que pode explicar a diferença na taxa de prenhez encontrada para estes animais. Ainda, segundo Yavas e Walton (2000), o período de anestro pós-parto tende a ser mais longo em vacas primíparas do que em vacas múltiparas, pois o balanço energético negativo e, conseqüentemente o anestro pós-parto nas primíparas é mais acentuado. Portanto, além de outras exigências nutricionais, as vacas primíparas ainda se encontram em fase de crescimento no pós-parto, demandando deste modo de mais energia, fato este que explica o resultado do presente estudo.

De acordo com o presente trabalho, vacas múltiparas responderam de forma mais eficiente ao protocolo hormonal para a pré-sincronização. Neste sentido, vacas com baixa reserva corporal, acentuada perda de peso e/ou início do pós-parto apresentam anestro com ovário inativo, onde os folículos iniciam seu crescimento até a fase de recrutamento (4 mm), no entanto, não acontece as fases de seleção e

dominância do folículo (PETER et al., 2009). Este fato também pode explicar um possível grau de anestro mais profundo para as vacas primíparas em comparação as múltiparas, pois segundo Ferreira (2010), nestas condições os animais não respondem eficientemente a tratamentos hormonais.

Tabela 5 - Taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos para os grupos pré-sincronização hormonal (GT) e grupo controle (GC) para as vacas primíparas e múltiparas

Primíparas		
	n	% Prenhez
GT	13	23,07 ^b
GC	12	25,00 ^b
Múltiparas		
GT	26	69,23 ^a
GC	27	44,44 ^{ab}

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente ($p=0,0082$) pelo teste Mann-Whitney.

Outro fato que poderia explicar as diferenças encontradas entre a taxa de prenhez de vacas primíparas e múltiparas no presente trabalho, é o maior grau de estresse sofrido pelas vacas primíparas. Segundo Spitzer et al. (1995) vacas primíparas apresentam menores taxas de prenhez pois estas sentem maiores efeitos do estresse ao parto, aliado aos efeitos conjuntos do crescimento e da primeira lactação, neste contexto, as demandas nutricionais se elevam, resultando em baixa resposta reprodutiva.

5. CONCLUSÕES

O protocolo de pré-sincronização hormonal a base de progesterona e estrógeno não alterou a dinâmica folicular das vacas no período pós-parto.

O protocolo de pré-sincronização hormonal não alterou a taxa de prenhez dos grupos avaliados.

A taxa de prenhez das vacas múltíparas do grupo exposto a pré-sincronização hormonal foi superior ao das vacas primíparas.

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. B.; BERTAN, C. M.; ROSSA, L. A. F.; GASPAR, 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, p. 456-465, 2006.
- ALMEIDA, I. C.; PINHO, M. M.; MENDONÇA, L. P. V.; GOMES, T. B.; SIQUEIRA, J. G.; FONTES, C. A. A. Influência do diâmetro folicular sobre a taxa de prenhez em vacas leiteiras na utilização da inseminação artificial em tempo fixo. In: Anais **XL Semana Capixaba do Médico Veterinário**. Guarapari - ES, p. 07, 2013.
- ALMEIDA NETO, J. R. M. **Dinâmica Folicular em vacas Magras com Anestro e taxa de Prenhez com IATF em Vacas Leiteiras, Mestiças de Diferentes Escores de Condição Corporal**. Dissertação (Doutorado), UVF, Viçosa, 62p., 2013.
- ALMERAYA, A. P. **Manejo Reproductivo en Bovinos em Sistemas de Producción de Leche**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de Mexico, 2010.
- ARAKAWA, S.; LYO, M.; OHKAWA, R.; KAMBEGAWA, A.; OKINAGA, S.; ARAI, K. Steroid hormone receptors in the uterus and ovary of immature rats treated with gonadotropins. **Endocrinology Japonense**. v.36, p.219-228, 1989.
- ARIAS, L. A. Q.; PABLO, C. D.; HERRADÓN, P. J. G.; MARTÍNEZ, A. I. P.; GONZÁLEZ, J. J. B. **Ecografía y Reproducción em la Vaca**, Universidade de Santiago de Compostela, 2006.
- BARBOSA, C. F. **Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico de gestação em vacas leiteiras mestiças**. 2009. 40 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2009.
- BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A. TEIXEIRA, A. B.; TRINCA, L. A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 α and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.53, n.5, p.1121-1134, 2000.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J. O.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: Anais **III Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, v. 1, p. 146-167, 2008.
- BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M.; RODRIGUES, C.; NASSER, L.; SILVA, R. Effect os eCG treatment on the conception rate after FTAI in Nelore cows with different body condition scores (meta-analyses). **Acta Scientiae Veterinariae**, São Paulo, v.32, p. 228, 2004.
- BARUSELLI, P. S. **Manual prático de Inseminação Artificial em Tempo Fixo**. Biogenesis Brasil., 56 p. 2004.

BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H. **Simpósio sobre controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, p. 332, 2000.

BECALUBA, F. Métodos de Sincronización de Celos em Bovinos, 2006. **Sitio Argentino de Producción Animal**. Disponível em: <<http://www.produccion-animal.com.ar>>. Acesso em: 07 de janeiro de 2015.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.E.; SOUZA, A.H.; MAPLETOFT, R. J. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. **Anais do Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina, PR, . v.1, p. 95-110, 2008.

BÓ, G.A.; CUTAIA, I.; BARUSELLI, P.S. Programas de inseminacion artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. São Paulo: FMZU - USP, p.56-80, 2004.

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

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, R.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72. 2002.

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

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.39, p.193–204, 1995.

BÓ, G.A.; ADAMNS, G.P.; PIERSON, R.A.; TRIBULO, H. E.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Follicular wave dynamics after estradiol 17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1555-1569, 1994.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; NASSER, L.F.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicar waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v.40, p.225-239, 1993.

BOSSIS, J. WETTERMANN, R. P.; WELTY, S. D.; VISCARRA, J.; SPICER, L. J. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology Reproduction**, v. 62, p. 1436-1400, 2000.

BRADEN, T. D.; KING, M. E.; ODDE, K. G.; NISWENDER, G. D. Development of preovulatory follicles expected to form short-lived corpora lutea in beef cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 85, p. 97-104, 1989.

BRAGANÇA, J. F. M.; GONÇALVES, P. B. D.; BASTOS, G. M.; NEVES J. P.; OLIVEIRA, J. F. C.; SIQUEIRA L. C.; BORGES L. F. K.; POMBO R. D. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.28, n.2, p.73-77, 2004.

BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. Indução do estro no pós parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.476-484, 2005.

BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A.; LEMES, J. S.; PIMENTEL, C. A.; MORAES, J. C. F. Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte submetidas a indução/sincronização de cio. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n.1, p. 99-103, 2009.

BURKE, C.; MUSSARD, M.; GASSER, C.; GRUM, D.; DAY, M. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, v. 60, n. 4, p. 647–658, 2003.

BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E.; Day, M. L. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrous and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal Reproduction Science**, v.66, p.161–174, 2001.

CABRAL, J. F.; LEÃO, K. M.; SILVA, M. A. P.; BRASIL, R. B. Indução do estro em novilhas nelore com implante intravaginal de progesterona de quarto uso. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. v. 20, p. 49-53, 2013.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P.; WADE, M.; FAIR, T.; CROWE, M. A.; EVANS, A. C. O.; KENNY, D. A.; ROCHE, J. F.; LONERGAN, P. Effect of increasing progesterone concentration from day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 20, n. 3, p. 368-375, 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.189-96, 2006.

CASTILHO, C.; GAMBINI, A. L. C.; FERNANDES, P.; TRINCA, L. A.; TEIXEIRA, A. B.; BARROS, C. M. Synchronization of ovulation in crossbred dairy heifers using gonadotrophin-releasing hormone agonist, prostaglandin F₂ and human chorionic gonadotrophin or estradiol benzoate. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 33, p.91 - 101, 2000.

CAVALIERI, J.; FITZPATRICK, L. A. Oestrus detection techniques and insemination strategies in *Bos indicus* heifers synchronized with norgestomet oestradiol. **Australian Veterinary Journal**, v. 72, p. 177-182, 1995.

CHEBEL, R.C.; SANTOS, J. E.; REYNOLDS, J. P.; CERRI, R. L.; JUCHEM, S. O.; OVERTON, M. Effect of fat sources differing in fatty acid profile on fertilization rate and embryo quality in lactating dairy cows. **Journal of Animal Science.**, v.82, p. 586, 2004.

CHRISTIAN. R.E; CASIDA.L.E. The effect of progesterone in altering the oestral cycle of the cow. **Jornal of Animal Science.**, v.7, p.540, 1948

CLARKE, J.J. GnRH secretion. **Anais International Congress On Animal Reproduction and Artificial Insemination.**, p.1-9, 1988.

COLAZO, M.G.; AMBROSEA, D.J. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. **Theriogenology**, v.76, p. 578–588, 2011.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVANA, Q. A.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, v. 81, p. 25-34, 2004.

COOPER, D. A.; CARVER, D. A.; VILLENEUVU, P.; SILVIA, W. J.; INSKEEP, E. K. Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. **Journal Reproduction Fertility**, v.91, p.411-421, 1991.

CREPALDI G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF.** São Paulo, 2009. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 88p. 2009.

CUNHA, A. P.; GUENTHER, M.J.; MARONEY, J. O.; GIORDANO, A. B.; AYRES, H.; WILTBANK, M.C. Effects os high vs. low progesterone concentrations during Ovsynch on double ovulation rate and pregnancies per AI in high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 240-246, 2008.

CUSTER E.E.; BEAL, W.E.; WILSON, S.J.; MEADOWS, A. W.; BERARDINELLI, J. G.; ADAIR, R. Effect of melengestrol acetate (MGA) or progesterone releasing intravaginal device (PRID) on follicular development, concentrations of estradiol-17_ and progesterone, and LH release during an artificially lengthened bovine estrous cycle. **Jornal of Animal Science**, v.72, p.1282-1289, 1994.

DALTON, J. C.; NADIR, S.; BAME, J. H.; NOFTSINGER, M.; NEBEL, R. L.; SAACKE, R. G. Effect of time of insemination on number of accessory sperm, fertilization rate, and embryo quality in nonlactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 2413-2418, 2001.

DAY, M. L. Hormonal induction of estrous cycles in anestrus *Bos taurus* beef cows. **Animal reproduction science**, v. 82-83, p. 487–94, 2004.

DAY, M. L.; ANDERSON, L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal Animal Science**, v.76, p.1-15, 1998.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; CLUTTER, A.C.; WOLFE, P.L.; ZALESKY, D.D.; K. NIELSEN, K.; KINDER, J.E. 1987. Suckling behavior of calves with dams varying in milk production. **Journal Animal Science**, v.1, p.1165-1207, 1987.

DE CASTRO, T. Anestro posparto em a vaca de cria. In: UNGERFELD, R. **Reproducción em los animales domésticos**. 1. ed, Montevideo: Melibea, v.1, p. 207-218, 2002.

DE LA OSSA, J. E. P. Tasa de preñez en vacas con dispositivos intravaginales CIDR[®] nuevos y usados dos o tres veces por siete días, en la Hacienda Santa Elisa, El Paraíso, Honduras, 2007. 11p. **Proyecto especial** (Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria), Zamorano, 2007.

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

DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**. v.23, p. 201-207, 2002.

DUFFY, P.; CROWE, M.A.; AUSTIN, E.J.; MIHM, M.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, v.61, p.725-734, 2004.

EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, L. D.; WEBSTER, G. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.

FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K.; KINDER, J. E.; LEWIS, P. E.; SHORT, R. E.; HAFS, H. D. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrus when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2009-2015, 1997.

FERREIRA, A. M. **Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia Aplicada e Problemas Mais Comuns (Causas e Tratamentos)**. Ed. Editas Associada, 1ª ed. 422p, 2010.

FERREIRA, A. M., Interação Nutrição e Reprodução: Manejo Reprodutivo de Fêmeas nos Trópicos. **Anais II Simpósio de Produção de Gado de Corte**, p. 137-146, 2000.

FIRMINO NETO, J. E.; OLIVEIRA, M. A. L.; LIMA, P.F; ALVES, J. D. R.; CHIAMENTI, A. Associação entre progestágenos e desmame temporário no pós-

parto de vacas Nelore com cria ao pé. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 340-341, 1999.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P. E.; DEAVER, D. R.; SMITH, V. G.; LEWIS, G. S.; INSKEEP, E. K. Endocrine profiles associated with lifespan of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **Journal Animal Science**, v.62, p.1353-1362, 1986.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; BARROS C.M.; BARUSELLI, P.S. Estudo ultra-sonográfico da divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Acta Scientiae Veterinariae**, [Resumo].v.33, supl.1, p.210, 2005.

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, 1979.

GOMES, T. B.; **Efeito da pré-exposição de progesterona na taxa de concepção em vacas de corte submetidas à IATF**. Dissertação Mestrado, UENF, Campos dos Goytacazes-RJ, 86p, 2013.

GONÇALVES, P. B. D.; OLIVEIRA, F. F. C.; SILVEIRA, R. S.; FERREIRA, R. Anestro pós-parto em vacas de corte. **Anais Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**. Londrina, p. 105-116, 2004.

GRAHAM, J. D.; CLARKE, C. L. Physiological action of progesterone in target tissues. **Endocrinology Rev.**, v.18, p.502-519, 1997.

GRAY, C. A.; BURGHARDT, R. G.; JOHNSON, G. A.; BAZER, F. W.; SPENCER, T. E. Evidence that absence of endometrial gland secretions in uterine gland knockout ewes compromises conceptus survival and elongation. **Reproduction**, v.124, p. 289-300, 2002.

GREGORY, R. M.; ROCHA, D. C. Protocolos de Sincronização e indução de Estros em Vacas de Corte no Rio Grande do Sul. Londrina. **Anais Simposio Internacional de Reproducao Animal Aplicada**. Sao Paulo : FMZU - USP, v. 1, p.147-154, 2004.

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7ª ed. Barueri, São Paulo, Ed. Manole, 2004.

HANSEN, P. J.; ARÉCHIGA, C. F. Strategies for managing reproduction in heat-stressed dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 77, suppl. 2, p. 36-50, 2000.

HASLAM, S.Z.; SHYALAMA, G. Relative distribution of estrogen and progesterone receptors among the epithelial, adipose, and connective tissue components of the normal mammary gland. **Endocrinology**, v.108, p.825-830, 1981.

HORTA, A. E. M. Fisiologia do puerperio na vaca. **Anais Jornadas Internacionais de Reproduccion Animal**. Santander, p.73-84. 1995.

IMWALLE, D. B.; FERNANDEZ, D. L.; SCHILLO, K. K. Melengestrol acetate blocks the preovulatory surge of luteinizing hormone, the expression of behavioral estrus,

and ovulation in beef heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1280-1284, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE - **Banco de dado agregados**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?c=3939&z=p&o=27&i=P>>. Acesso em: 07 de janeiro de 2015.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL - INCAPER - **Incaper em Revista**; v. 2 e 3, ed. Incaper, 2012.. Disponível em: <<http://www.incaper.es.gov.br/servicos/images/RevistaIncaper2012.pdf>>. Acesso em: 07 de janeiro de 2015.

KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal of Reproduction Science**, v.26, n.1-2, p.13-24, 1991.

KATO, J.; ONOUCHI, T. Specific progesterone receptors in the hypothalamus and anterior hypophysis of the rat. **Endocrinology**, v.101, p.903-928, 1977.

KESLER, D. J.; FAVERO, R. J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. Part. 1: Mechanism of action. **Agricultural Practice and Science Journal**, Romenia, v.16, p. 6-11, 1995.

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

KINDER J.E. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17 β -oestradiol concentration in cows is related to concentration of progesterone comes from Esther in endogenous or exogenous source. **Animal of Reproduction Science**, v.37, p.257-265, 1996.

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

LOGUÉRCIO, R.S. **Regulação de receptores esteróides e dinâmica folicular em um sistema de indução hormonal pós-parto em vacas de corte**. 80p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.

MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O. **Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes**. 1.ed. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP, v.1, p.89-98, 2009.

MADUREIRA, E. H.; FERNANDES, R. H. R.; ROSSA, L. A. F.; PIMENTEL, J. R. V.; BRAGA, F. A.; PARDO, F. J. D. Anestro pós-parto em bovinos: a suplementação com óleos vegetais pode ser útil para encurtá-lo? **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 2º, São Paulo: FMZU - USP, 2006, p. 63-70. 2006.

MACKEY, D. R.; SREENAN, J. M.; ROCHET, J. F.; DISKIN, M. G. The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1917-1929, 2000.

MANN, G. E.; FRAY, M. D.; LAMMING, G. E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- τ production in the cow. **The Veterinary Journal**, v. 171, n. 3, p. 500-503, 2006.

MANN, G. E.; PAYNE, J. H.; LAMMING, G. E. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F₂ secretion by the bovine and ovine uterus *in vivo*. **Domestic Animal Endocrinology**, v.21, p.127-141, 2001.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; WATHES, D. C. The regulatory of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal Reproduction Fertility**. v.54, p.317–28, 1999.

MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; COLAZO, M.G. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. *Domes anim.* **Endocrinologist**, v.33. p.77 – 90, 2003.

McNEILL, R. E.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; MORRIS, D. G. Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**, v.65, p.1435- 1441, 2006.

MEDALHA, A. G.; SOUZA, M. I.; SOUZA, A. S.; QUEIROZ, V. L. D.; COSTA FILHO, L. C. C. Reutilização de dispositivos intravaginais de progesterona, diâmetro folicular e comportamento estral na prenhez de vacas zebuínas. **Enciclopédia Biosfera**, v.10, n. 18, p. 2723-2734, 2014.

MEHNI, S. B.; SHABANKAREH, H. K.; KAZEMI-BONCHENARI, M.; EGHBALI, M. The comparison of treating Holstein dairy cows with progesterone, CIDR and GnRH after insemination on serum progesterone and pregnancy rates. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, n. 1, p. 131-134, 2012.

MIHM, M.; AUSTIN, E.J. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2219–2226. 2002.

MIRANDA, M. S.; TOLEDO, L. M.; AMARAL, J. B.; ARCARO, R. P.; CARDOSO, D. Efeito do protocolo de pré-sincronização na taxa de concepção de vacas leiteiras submetidas à IATF. **Anais do Congresso Brasileiro de Zootecnia**. Águas de Lindóia, SP. p.1-3, 2009.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. Tese

Doutorado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 98f. São Paulo, 2003.

MONTEZUMA JR, P. A. **Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas leiteiras mestiças (3/8 Holandês X 5/8 Gir) submetidas a um tratamento hormonal à base de GnRH e prostaglandina F2 α** . 2001. 70 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2001.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONCALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONCALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**. São Paulo: **Livraria Varela**, Cap.2, p.25-55, 2001.

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

MORI, T.; SUZUKI, A.; NISHIMURA, T. KAMBEGAWA, A. Inhibition of ovulation in immature rats by antiprogesterone antiserum. **Journal Endocrinology**, v.73, p.185-186, 1977.

MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, n.2, p.523-533.1990.

MURTA, J.E.J. **Controle farmacológico da onda folicular em vacas nelore associando acetato de melengestrol, prostaglandina e gonadorelina**. Belo Horizonte, MG, Tese. Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.

NASCIMENTO, V.A. **Inseminação artificial em tempo fixo e transferência de embriões na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas**. Tese (Departamento de Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG, 178p. 2009.

NASH, J. M.; MALLORY, D. A.; ELLERSIECK, M. R.; POOCK, S. E.; SIMTH, M. F.; PATTERSON, D. J. Comparison of long-versus short- term CIDR-based protocols to synchronize estrus prior to fixed-time AI in postpartum beef cows. **Animal Reproduction Science**, v, 132, p. 11-16, 2012.

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

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.817-830, 1990.

OLIVEIRA, F. A. **Estratégias adicionais em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bovinas**. Viçosa, MG, 2013, 111p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 2013.

OLIVEIRA, F. A. **Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de fêmeas de bovinos mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. Viçosa, MG, 2009, 51p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2009.

PADMANABHAN, V.; McNEILLY, A. Is there an FSH releasing factor? **Reproduction**, v.121, p. 21-30, 2001.

PAPKOFF, H. Chemical and properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.58, n.2, p.397-404, 1974.

PARFET, J.R. Secretory patterns of LH and FSH and follicular growth following administration of PGF2 α during the early luteal phase in cattle. **Theriogenology**, v.31, n.3, p.513-524, 1989.

PATTERSON, D. J.; KIRACOFE, G. H.; STEVENSON, J. S.; CORAH, L. R. Control of the bovine estrous cycle with Melengestrol acetate (MGA): a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, p. 1895-1906, 1989.

PEGORER, M.F.; ERENO, R.L.; SATRAPA, R.A.; PINHEIRO, V. G; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Neither plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for puberal Nellore heifers. **Theriogenology**, v.75, p.17-23, 2011.

PEIXOTO JÚNIOR, K. C.; ULIAN, C. M. V. Avaliação da taxa de prenhez de vacas tratadas com dispositivos de progesterona reutilizados. **Pubvet**, v. 1, p. 127-132, 2007.

PEREIRA, C. H.; GOTTSCHALL, C. S.; MATTOS, R. C.; EVANGELISTA, G. T.; SILVA, B. V. C.; JOBIM, M. I. M.; GREGORY, R. M. Luteólise antecipada em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo com progesterona em vacas no pós-parto. **Veterinária Notícias**, v. 17, p. 42-49, 2011.

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

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; GEARY, T. W. Ability os intravaginal progesterone inserts and melengestrol acetate to induce estrous cycles in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 695-704, 2004.

PERRY, G. A.; BADER, J. D.; PATTERSON, D. J. Evaluation of a fixed-time artificial insemination protocol for postpartum suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 3060-3064, 2002.

PETER, A. T.; VOS, P. L. A. M.; AMBROSE, D. J. Postpartum anestrus in dairy cattle - Review. **Theriogenology**, v. 71, p. 1333-1342, 2009.

RATHBONE, M.J.; KINDER, J.E.; FIKE, K.; KOJIMA, F.; CLOPTON, D.; OGLE, C. R.; BUNT, C. R. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v.50, n.3, p.277-320, 2001.

REECE, W. O. **DUKES - Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 12^a ed. 2006.

REVAH, I.; BUTLER, W.R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.106, n.1, p.39-47, 1996.

RHODES, F.M., BURKE, C.R., CLARK, B.A., DAY, M.L., MACMILLAN, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in post-partum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, v.69, p.139-150, 2002.

RIBEIRO FILHO, A. L.; FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; LOIOLA, M. V. G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do folículo no momento da inseminação artificial em tempo fixo e taxa de concepção em vacas nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 4, p. 1-4, 2013.

ROCHA, M. G.; POTTER, L.; ROSO, D. Sistemas intensivos de produção de gado de corte - ênfase recria de fêmeas. In: **Ciclo de Palestras em produção e manejo de bovinos**, Canoas, p.100-120, 2007.

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

RODRIGUES, L. A.; COSTA FILHO, L. C. C.; CASTRO, ALVES, L. G.; RIBEIRO, P. H. P. R.; FILHO, S. D.; SILVA, A. S. Efeitos do implante da progesterona (CIDR e CRONIPRES MONODOSE) e da avaliação prévia com ultrassonografia na taxa de prenhez de novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a IATF. In: **Anais da REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA**. Maringá, Paraná. 2009.

ROELOFS, J. B.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; SOEDE, N. M. et al. Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 63, p. 1366–1377, 2005.

ROSSA, L A. F.; BERTAN, C. M.; ALMEIDA, A. B.; GASPAR, P. S.; MAZZA, P. H.; BINELLI, M.; BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. Efeito do eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v. 46, p. 199-206, 2009.

RUIZ-CORTES, Z.T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v.54, p.211-220, 1999.

SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.P.; PERRY, G. A.; BARUSELLI, P. S. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cow. **Animal Reproduction Science**, v.120, p.120-123, 2010.

SÁ FILHO, O.G. **Efeito do tratamento com progesterona e do diâmetro folicular nas características histológicas e moleculares uterinas em vacas Nelore em anestro pós-parto**. Botucatu, SP, 183p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, 2010.

SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-218, 2009.

SÁ FILHO, O.G; VASCONCELOS, J.L.M. Fatores que alteram a dinâmica folicular das ondas foliculares e seus impactos na fertilidade de fêmeas bovinas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 409-432, 2008b.

SÁ FILHO, O.G; VASCONCELOS, J.L.M. Regressão prematura do corpo lúteo em bovinos. **Revista Veterinária e Zootecnia**. v.15, p.220-233, 2008a.

SÁ FILHO, O. G.; VALARELLI, R. L.; PERES, R. F. G.; HOE, F. G. H.; MENEGHETTI, M.; VASCONCELOS, J. L. M. Avaliação do uso do acetato de melengestrol (MGA[®] Premix) em vacas de corte. **A Hora Veterinária**, v. 158, p. 1-5, 2007.

SÁ FILHO, O. G.; DIAS, C. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone or 17 β - estradiol on luteal lifespan in anoestrous Nelore cows. **Journal Animal Science**, v. 84, suppl. 1, p. 207 (Abstract), 2006.

SALES, N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; CIPRIANO, G. A.; JACOMINI, J. O.; MAIO, J. R.; SOUZA, J. C.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, p.510–516, 2012.

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, P.M.; FERREIRA, J.C.P.; GHINTER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, n.65, v.5, p.1403-1409, 2001.

SAS Institute Inc. 2014. **SAS[®] Studio 3.2: Administrator's Guide**. Cary, NC: SAS Institute Inc.

SCHAMS, D.; BERISHA, B. Steroids as local regulators of ovarian in domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p. 53-65, 2002.

SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2^a ed, Ed Current Conceptions, Washington, 2003.

SHORT R. E.; ADAMS, D. C. Nutritional and hormonal interrelationships in beef cattle reproduction. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 68, p. 29-39, 1988.

SILVEIRA, A. P.; COSTA, M. Z.; GABRIEL FILHO, L. R. A.; CASTILHO, C. Efeito do período pós-parto sobre a taxa de prenhez de vacas de corte submetidas à IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo). **Colloquium Agrariae**, v. 6, p. 40-45, 2010.

SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P.; GUMEN, A.; AYRES, H.; BRUSVEEN, D. J.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK, M. C. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v.75, p.722–33, 2011.

SPENCER, T. E.; JOHNSON, G. A.; BURGHARDT, R. C.; BAZER, F. W. Progesterone and placental hormone actions on the uterus: insights from domestic animals. **Biology of Reproduction**, v. 71, p. 2-10, 2004.

SPITZER, J. C.; MORRISON, D. G.; WETTEMANN, R. P.; FAULKNER, L. C. Reproductive responses and calf birth and weaning weights as affected by body condition at parturition and postpartum weight gain in primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v.73, p. 1251-1257, 1995.

STAGG, K.; SPICER, L. J.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F.; DISKIN, M. G. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biology of Reproduction**, v.59, p.777- 783, 1998.

STAGG, K.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. Follicular development in long-term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 49 - 61, 1995.

STRONGE, A.J.; SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G.; MEE, J.F.; KENNY, D.A.; MORRIS, D.G. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v.64, p.1212-1224, 2005.

STUMPF, T.T.; DAY, M.L.; WOLFE, M.W.; CLUTER, A. C.; STOTTS, J. A.; WOLFE, P. L.; KITTIK, R. J.; KINDER, J. E. Effect of estradiol on luteinizing hormone secretion during the follicular phase of the bovine estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v.41, p.91-99, 1993.

TANAKA, T.; ARAI, M. OHTANI, S.; UEMURA, S.; KUROIWA, T.; KIM, S.; KAMOMAE, H. Influence of parity on follicular dynamics and resumption of ovarian cycle in postpartum dairy cows. **Animal of Reproduction Science**, v. 108, p. 134-143, 2008.

THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; PANCARCIA, S.M.; BARTOLOME, J. A.; SANTOIA, J.E. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.243-254, 2002.

THATCHER, W. W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J. E. P.; MATTOS, R. C.; LOPES, F. L.; PANCARCI, S. M.; RISCO, C. A. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.25, p. 75 - 89, 2001.

VASCONCELOS, J.L.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUENTHER, J. G.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 15, p. 307–14, 2011.

VASCONCELOS, J.L.M.; PEREZ, G.C.; SANTOS, R.M.; SILVA, A.T.N.; MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrous Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **Journal Animal Science**, v. 82 Suppl. 1, p. 67 (Abstract), 2004.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 2501-2509, 2000.

VIANNA, G. N. O.; KOZICKI, L. E.; WEISS, R. R.; SEGUI, M. S.; MEIRELLES, C.; EFING, A. C.; BREDA, J. C.; GIACOMELLI, A. Comparação de diferentes protocolos para a sincronização de estro e inseminação artificial em tempo fixo em vacas da raça nelore em anestro pós-parto. **Archives of Veterinary Science**, Paraná, v. 13, p. 247-254, 2008.

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

WEEMS, C.W.; WEEMS, Y.S.; RANDEL, R.D. Prostaglandins and reproduction in females farm animals. **The Veterinary Journal**, v.171, p.206-228, 2005.

WILTBANK, M.C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.21-52, 2002.

WILTBANK, M.C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. **Proceedings Annual Meeting Society For Theriogenology**, p.83-97, 1975.

WOAD, D.G.; ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology**, v.5339, p.1-9, 2002.

WOLFENSON, D.; INBARA, G.; ROTH, Z.; KAIMB, M.; BLOCHA, A.; BRAW-TAL, R. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**, v. 62, p. 1042-1055, 2004.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, p. 25-55, 2000.