

**UFRRJ**

**INSTITUTO DE ZOOTECNIA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Parâmetros Reprodutivos de Vacas Sindi (*Bos taurus indicus*) Tratadas com Dois Protocolos de Sincronização da  
Ovulação**

**Raquel Rodrigues Costa Mello**

**2011**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**PARÂMETROS REPRODUTIVOS DE VACAS SINDI (*Bos taurus indicus*) TRATADAS COM DOIS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO**

**RAQUEL RODRIGUES COSTA MELLO**

*Sob a orientação do Professor*  
**Marco Roberto Bourg de Mello**

*e Co-orientação do Professor*  
**Helcimar Barbosa Palhano**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal.

Seropédica, RJ  
Agosto de 2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**RAQUEL RODRIGUES COSTA MELLO**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 05/08/2011

---

Marco Roberto Bourg de Mello. PhD. UFRRJ  
(Orientador)

---

Ângelo José Burla Dias. PhD. UENF

---

Júlio César Ferraz Jacob. PhD. UFRRJ

A Deus, meu amado e meu tesouro, Rei supremo e Pai de bondade, fonte de toda a minha fé e de toda minha fortaleza, em quem eu confio plenamente todas as fases da minha vida, eu dedico este meu trabalho.

Aos meus pais João Batista da Costa Mello e Maria Rodrigues Costa Mello, pelo imenso amor, carinho, compreensão, companheirismo, preocupação e por todos os momentos de atenção e de alegria, sem os quais eu não poderia de modo algum completar toda esta jornada.

Ao meu querido irmão e mestre Daniel Rodrigues Costa Mello, pela atenção, amizade, dedicação e aprendizagem, cuja presença em minha vida vem sendo componente chave de minha evolução espiritual.

Ao professor orientador deste trabalho Doutor Marco Roberto Bourg de Mello, pela confiança e pela dedicação, e por me proporcionar um aprendizado fundamental em minha vida.

A todos os meus amigos que direta ou indiretamente me ajudaram e apoiaram na realização deste trabalho. A todos estes eu dedico este meu trabalho de dissertação.

*(...) Eu continuo lançando olhares, agarrando muros, ilusões de uma flor nova e despetalada...*

*Se tem mais em mim que eu devia supor nestas distantes andanças de que se farta o sol*

*Estou tão certa de que em mim se vale mais que um esforço, que um poente, que uma voz...*

*Estou tão certa que continuo trocando canções!!!(...)*

**Florbelá Espanca**

## AGRADECIMENTOS

A Deus e a minha Família, pela presença em todos os momentos felizes e difíceis, por compartilharem e acompanharem com alegria a evolução e o desfecho de mais esta jornada.

A Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por me acolher durante os anos de graduação em Medicina Veterinária e por me proporcionar a oportunidade de cursar e concluir o Mestrado em Zootecnia, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Ao professor orientador Doutor Marco Roberto Bourg de Mello, pela sua presença, atenção, amizade e brilhante orientação na realização deste trabalho, e por me proporcionar uma enorme autoconfiança e inteira satisfação com a realização deste trabalho.

Ao professor co-orientador e amigo Doutor Helcimar Barbosa Palhano, por sua atenção e brilhantes ideias na confecção de artigos e resumos, e sua participação sempre ativa na realização deste trabalho.

Ao professor da Embrapa Gado de Leite de Juiz de Fora/MG Mirton José Frota Morenz, pela amizade, atenção e pelo aprendizado em análises estatísticas, e ao professor do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Nivaldo de Faria Sant'Ana, pela orientação na interpretação das análises estatísticas do experimento.

Aos professores do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Marco Roberto Bourg de Mello, Vera Lúcia Teixeira de Jesus, José Eugênio Trés, Júlio César Ferraz Jacob e Victor Cruz Rodrigues, pela brilhante atenção, amizade, apoio e incentivos para a realização deste trabalho, e por me proporcionar um imenso aprendizado acadêmico e profissional.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pelos conhecimentos transmitidos, fundamentais para minha formação profissional e pessoal.

As amigas do curso de graduação em Medicina Veterinária e do curso de graduação em Zootecnia Fabíola Ane Balbino Gomes, Isabela Pereira de Oliveira e Adriana Ribeiro Marçal, pelas risadas e pelos apertos durante todos esses anos de companheirismo e dedicação.

Aos alunos do curso de graduação em Medicina Veterinária Beatriz de Oliveira Cardoso, Leandro Mendes Mascarenhas e Bernardo Janella Ferreira da Silva e aos alunos do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia Joaquim Esquerdo Ferreira e em Medicina Veterinária Ana Paula Toledo Barbosa da Silva, pela amizade, alegria, apoio e pelo brilhante auxílio prestado durante a realização da parte experimental.

A todos os estagiários, alunos e amigos do Departamento de Reprodução e Avaliação Animal do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e a todos os demais amigos conquistados durante todos esses anos, sem os quais eu não poderia deixar de mencionar, e de contar sempre com a presença e com o pensamento.

## **BIOGRAFIA**

RAQUEL RODRIGUES COSTA MELLO, filha de João Batista da Costa Mello e Maria Rodrigues Costa Mello, nasceu em 01 de fevereiro de 1984, na cidade de Cataguases, estado de Minas Gerais. cursou o ensino fundamental na Escola Estadual Astolfo Dutra, em Cataguases, Minas Gerais, entre os anos de 1995 e 1998; e o ensino médio na Escola Estadual Manuel Inácio Peixoto, entre os anos de 1999 e 2001.

Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2004, concluindo o mesmo curso em 2009.

Durante a graduação, realizou estágios no Hospital Veterinário de Grandes Animais e de Pequenos Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro nos anos de 2005 e 2009, respectivamente. Realizou também estágios no Setor de Garanhões do Instituto de Zootecnia e no Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro nos anos de 2005 e 2006, respectivamente.

Começou a fazer estágio no Departamento de Reprodução e Avaliação Animal do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em 2007, onde foi bolsista de Iniciação Científica pela FAPERJ nos anos de 2008 e 2009, sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello.

Participou de projetos de pesquisa e publicações na área de Reprodução Animal, com ênfase nas áreas de Fisiologia e Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, assim como cursos e eventos científicos realizados na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e externamente.

Ingressou no Programa de Pós-graduação em Zootecnia, nível Mestrado, na área de concentração em Produção e Nutrição de Ruminantes na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob a orientação do professor Doutor Marco Roberto Bourg de Mello, em 2009.

## RESUMO

MELLO, Raquel Rodrigues Costa. **Parâmetros reprodutivos de vacas Sindi (*Bos taurus indicus*) tratadas com dois protocolos de sincronização da ovulação.** 2011. 48p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

A raça Sindi apresenta excelente adaptabilidade às condições adversas de manejo e clima, e boa capacidade de produção de leite. Embora muitas pesquisas venham sendo desenvolvidas com animais desta raça, tais experimentos se concentram predominantemente em aspectos produtivos, pesquisas envolvendo a área reprodutiva ainda são escassas na raça Sindi. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar os parâmetros reprodutivos de vacas Sindi, buscando melhorar a eficiência dos protocolos de IATF nesta raça. Para tanto, 16 vacas da raça Sindi, com escore de condição corporal entre 3,0 e 4,0 (escala de 1,0 a 5,0) foram divididas em dois grupos de avaliação: no grupo I (esquema BE, n=8), os animais receberam no dia 0 um implante intravaginal impregnado com 1,9g de progestágeno e uma aplicação de 2mg de benzoato de estradiol. No dia 8 o implante vaginal foi removido, sendo aplicados 10mg de Dinoprost (PGF<sub>2</sub>α) e, no dia 9, aplicado 1mg de benzoato de estradiol, sendo realizada a IATF 36 horas após; no grupo II (esquema BE + eCG, n=8), os animais passaram pelo mesmo tratamento, sendo que no dia 8 foram aplicadas 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG). A partir do dia 0, para os dois tratamentos, os animais foram examinados diariamente por via trans-retal com aparelho de ultrassom (CHISON<sup>®</sup> D600 VET) equipado com um transdutor linear de 7,5 MHz. Esta avaliação foi realizada até o momento da ovulação. Em cada avaliação, os maiores folículos de cada dia (≥4 mm) foram mensurados. Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para avaliação dos resultados, sendo as médias determinadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Pela análise dos dados, observou-se que não houve diferença estatística (P>0,05) para os grupos I e II na emergência da onda folicular, 4,5 ± 1,4 e 3,8 ± 0,3 dias; no intervalo entre a emergência da onda e a ovulação, 5,8 ± 1,4 e 7,1 ± 0,3 dias; no intervalo entre a emergência da onda e a retirada do implante, 3,5 ± 1,4 e 4,1 ± 0,3; no intervalo entre a retirada do implante e a ovulação, 74,0 ± 11,8 e 82,5 ± 4,2 horas; no diâmetro do folículo dominante (FD) na retirada do implante, 7,5 ± 2,5 e 6,6 ± 1,5 mm; no diâmetro máximo do FD, 10,47 ± 3,7 e 8,85 ± 1,2 mm; na taxa de crescimento do FD, 0,90 ± 0,7 e 0,83 ± 0,6 mm/dia e na taxa de ovulação, 75% (6/8) e 100% (8/8), respectivamente. Com relação à taxa de prenhez, foi observada diferença estatística (P<0,05) entre os grupos I e II, sendo 0% (0/8) e 50% (4/8), respectivamente. Portanto, conclui-se que o uso do eCG em fêmeas bovinas da raça Sindi não foi efetivo em melhorar os parâmetros reprodutivos analisados, talvez pelo fato das vacas apresentarem bom escore de condição corporal durante a realização do experimento. Por outro lado, houve um aumento na taxa de prenhez com o uso do eCG, indicando que este pode ser uma ferramenta útil em protocolos de IATF nesta raça.

**Palavras-chave:** Crescimento Folicular, eCG, Zebuínos



## ABSTRACT

MELLO, Raquel Rodrigues Costa. **Reproductive parameters of Sindhi cows (*Bos taurus indicus*) treated with two ovulation synchronization protocols.** 2011. 48p. Dissertation (Master Science in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

The Sindhi breed has excellent adaptability to adverse weather conditions and management, and good ability to milk production. Although many researches will be developed with Sindhi breed animals, such experiments are focused mainly on productive aspects, and researches involving the reproductive tract are still scarce in the Sindhi Zebu breed. Thus, the aim of this study was to evaluate the reproductive parameters of Sindhi cows, aiming to improve the efficiency of FTAI protocols in this breed. To this end, sixteen Sindhi cows with body condition score between 3,0 and 4,0 (scale from 1 to 5) were divided into two evaluation groups: In group I (BE protocol, n=8) animals received on day 0 an intravaginal P4 device and an application of 2mg of estradiol benzoate. On day 8 the device was removed and applied 10mg of Dinoprost (PGF $2\alpha$ ), and on day 9, applied 1 mg of estradiol benzoate, and were fixed-time artificial inseminated 36 h later; in group II (BE + eCG protocol, n=8) animals were submitted through same treatment, and on day 8 were applied 400 IU of eCG. From day 0 for both treatments, the animals were examined daily by trans-rectal ultrasound device equipped with a 7,5MHz linear transducer (CHISON<sup>®</sup> D600 VET). This evaluation was performed up to ovulation. At each assessment, the largest follicles of each day ( $\geq 4$  mm) were measured. It used analysis of variance (ANOVA) to evaluate the results, and the means determined by Tukey test, with significance level of 5%. For data analysis, it was observed that there was no statistical difference ( $P > 0.05$ ) for groups I (Treatment I: no eCG) and II (Treatment II: 400 IU eCG) concerning to emergence of follicular wave,  $4.5 \pm 1.4$  and  $3.8 \pm 0.3$  days; interval between the emergence of the wave and ovulation,  $5.8 \pm 1.4$  and  $7.1 \pm 0.3$  days; interval between the emergence of the wave and implant removal,  $3.5 \pm 1.4$  and  $4.1 \pm 0.3$ ; interval between implant removal and ovulation,  $74.0 \pm 11.8$  and  $82.5 \pm 4.2$  hours; diameter of the dominant follicle (DF) at the time of implant removal,  $7.5 \pm 2.5$  and  $6.6 \pm 1.5$  mm; diameter maximum of DF,  $10.47 \pm 8.85$  and  $3.7 \pm 1.2$  mm; growth rate of the DF,  $0.90 \pm 0.83$  and  $0.7 \pm 0.6$  mm/day and ovulation rate, 75 % (6/8) and 100% (8/8), respectively. Regarding to pregnancy rate, it was observed that there was statistical difference ( $P < 0.05$ ) between protocols I and II (0% and 50%, respectively). Therefore, we conclude that the use of eCG in Sindhi breed cows was not effective in improving the reproductive parameters examined, perhaps because the cows are cycling at the beginning of treatment and had good body condition score during the experiment. On the other hand, there was an increase in pregnancy rate with the use of eCG, indicating that this gonadotropin may be a useful tool in FTAI protocols in this breed.

**Key Words:** Follicular Growth, eCG, Zebu

## **LISTA DE FIGURAS**

**FIGURA 1.** Esquema de sincronização da ovulação sem a utilização do eCG.....25

**FIGURA 2.** Esquema de sincronização da ovulação empregando 400 UI de eCG.....25

## **LISTA DE TABELAS**

<b>TABELA 1.</b> Distribuição dos animais nos tratamentos conforme a faixa etária.....	23
<b>TABELA 2.</b> Parâmetros reprodutivos de vacas Sindi tratadas com dois protocolos de sincronização da ovulação.....	28

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>3</b>
2.1 Geral.....	3
2.2 Específico.....	3
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
3.1 Fisiologia do Ciclo Estral.....	4
3.2 Dinâmica Folicular Ovariana.....	7
3.2.1 Desenvolvimento folicular antral.....	7
3.2.2 Padrão de ondas de crescimento folicular.....	8
3.2.3 Recrutamento.....	9
3.2.4 Seleção e dominância folicular.....	10
3.2.5 Maturação folicular, ovulação e função do corpo lúteo.....	13
3.3 Sincronização do Estro e da Ovulação.....	14
3.3.1 Sincronização do estro com prostaglandina F2 $\alpha$ .....	15
3.3.2 Sincronização do estro com o uso de progesterona ou progestágenos.....	15
3.3.3 Uso do eCG na sincronização da ovulação para IATF.....	19
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
4.1 Local e período do experimento.....	23
4.2 Animais.....	23
4.3 Estabelecimento dos grupos de tratamento para sincronização da ovulação.....	23
4.4 Manejo reprodutivo e nutricional.....	24
4.5 Avaliação dos parâmetros reprodutivos durante os protocolos de sincronização.....	24
4.6 Exames ultrassonográficos.....	26
4.7 Delineamento experimental e análise estatística.....	26
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>28</b>
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>33</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>34</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro é composto por mais de 200 milhões de animais (MAPA, 2010), sendo que o gado zebu (*Bos taurus indicus*) corresponde a aproximadamente 80% desse patrimônio. A predominância desse grupo genético se deve a maior adaptabilidade às condições climáticas e a disponibilidade de alimentos encontrados no Brasil tropical. Porém, apesar dessas características adaptativas dos zebuínos às condições tropicais, na grande maioria dos rebanhos brasileiros observa-se comprometimento nos indicadores de eficiência reprodutiva, devido às dificuldades em uma precisa detecção deaios no rebanho e ao prolongado período de anestro pós-parto no qual se encontram as vacas do rebanho bovino brasileiro. Além da baixa eficiência reprodutiva, o rebanho brasileiro apresenta baixa taxa de inseminação, sendo que apenas 6% das vacas em idade reprodutiva do rebanho brasileiro são inseminadas (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

O controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação em zebuínos (*Bos taurus indicus*) depende, primeiramente, do entendimento fisiológico reprodutivo da vaca. No entanto, ainda são escassos os estudos sobre a fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas submetidas a protocolos hormonais (FERRAZ et al., 2008).

Segundo BALL; PETERS (2006), para maximização do potencial reprodutivo, especialmente de fêmeas domésticas, é importante estudar a foliculogênese a fim de se compreender os mecanismos e fatores envolvidos neste evento. Compreender os fenômenos fisiológicos associados ao crescimento folicular e à ovulação é fundamental para aperfeiçoar as biotecnologias da reprodução e, conseqüentemente, a eficiência reprodutiva dos rebanhos (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007 *apud* MACEDO, 2008).

As principais raças zebuínas que compõe o rebanho bovino brasileiro, tais como Nelore, Gir, Guzerá, Indubrasil e, atualmente, a raça Sindi, vêm se destacando sob o ponto de vista da aptidão leiteira. Tendo estas raças origem diversa, evoluído sob diferentes condições e sofrido variados estímulos por parte do homem, durante séculos, as atuais raças zebuínas não são iguais na sua fisiologia reprodutiva, e nem tão pouco equivalentes. As diferenças podem ser até maiores que as variações entre as raças de origem europeia, e esta desigualdade da raça do *Bos indicus* tem grande importância para o seu melhoramento, pois se pode encontrar uma raça zebuína apropriada para cada diferente condição dos trópicos ou para cada especialização (SANTIAGO, 2009).

A raça zebuína Sindi, originária de uma região árida do Paquistão, apresenta como principais características, a pelagem de cor avermelhada com mucosas escuras, ideal para as regiões tropicais e subtropicais, pequeno porte, menor consumo absoluto de alimentos, boa eficiência reprodutiva e boa capacidade de produção de leite, tanto em quantidade como em qualidade. Além destas vantagens sobressai a sua excelente adaptabilidade às condições adversas de clima e manejo, principalmente alimentar, nas condições do semiárido nordestino assim como nas condições da baixada e norte fluminense (CARVALHO, 2009). Como a raça Sindi não tem sido utilizada para a produção de carne, em seu país de origem, não existem estudos referentes a essa função econômica. Nota-se, porém que é um gado de pequeno porte, não podendo, por isso, concorrer com as outras raças como a Nelore, a Guzerá e a Indubrasil que alcançam pesos elevados. Seu desenvolvimento está mesmo aquém do apresentado pela raça Gir (SANTIAGO, 2009).

Todavia o destino dos machos excedentes nas explorações leiteiras será, necessariamente, o corte. De início, enquanto o rebanho brasileiro for reduzido, os garrotes serão encaminhados para os trabalhos de cruzamento, especialmente com as raças leiteiras

européias, como a Jersey, a fim de imprimir na descendência os predicados de rusticidade e resistência de que carecem os bovinos aperfeiçoados de origem européia, obtendo-se animais produtivos, resistentes e de pequeno porte, recomendados principalmente para pequenas explorações leiteiras típicos da agricultura familiar (SANTIAGO, 2009; CARVALHO, 2009). A demanda de reprodutores já é intensa e tão cedo não será satisfeita, uma vez que os plantéis são poucos e de proporções reduzidas (SANTIAGO, 2009).

Na Índia os animais da raça Sindi são bastante empregados como animais de trabalho, desempenhando bem suas tarefas na agricultura, como arações, escarificação do solo, extração de água de poços, transporte nas estradas, entre outras. Os machos destinados ao trabalho são castrados entre três e quatro anos de idade. Geralmente uma junta de animais pesa 670 a 820 quilos e, embora pequenos, são muito úteis na tração em estradas e no campo. Podem arrastar cargas de 600 a 900 quilos em carros de aro de ferro e eixo metálico, tanto em caminhos bons como nos acidentados. Costumam trabalhar durante 7 a 8 horas por dia, desenvolvendo velocidade média de 3 a 5 km/h. Os animais da raça Sindi podem também ser empregados como animais de carga e sela, transportando pesos de 150 a 230 quilos (SANTIAGO, 2009). No Brasil, a tração animal pode tornar-se uma opção viável para a agricultura familiar, favorecendo aos pequenos agricultores que não conseguem suportar o alto custo da agricultura mecanizada (BARUSELLI, 1997).

Observa-se também que estes animais apresentam certo grau de resistência à febre recorrente e à febre aftosa, resistência essa peculiar ao gado indiano (SANTIAGO, 2009).

Embora muitas pesquisas estejam sendo desenvolvidas com animais da raça Sindi, tais experimentos se concentram predominantemente em aspectos produtivos destes animais como, por exemplo, a qualidade da carcaça e da carne, a influência do meio sobre o tamanho corporal, o perímetro torácico, a altura e o comprimento da garupa, entre outros; pesquisas envolvendo a área reprodutiva, especialmente estudos referentes às biotécnicas da reprodução, como a sincronização da ovulação e a transferência de embriões, ainda são escassas na raça zebuína Sindi (CARVALHO, 2009).

A importância de se estudar a fisiologia reprodutiva da raça zebuína Sindi está relacionada com a necessidade de se avaliar os critérios para a sua seleção, sendo que esta deverá ser funcional. A produtividade deverá ser a base dos trabalhos seletivos, pela capacidade de produzir leite serão escolhidas as reprodutoras, e os filhos das melhores reprodutoras serão os futuros chefes do rebanho (SANTIAGO, 2009).

A entrada da raça Sindi pode acentuar a importância do Brasil como grande centro de criação e seleção do zebu. O fornecimento de reprodutores selecionados aos países situados na faixa intertropical pode vir a constituir nova fonte de renda para o Brasil, a fim de se obter divisas e equilibrar seu comércio exterior (SANTIAGO, 2009).

Neste sentido, a avaliação dos parâmetros reprodutivos da raça zebuína Sindi seria de grande importância para a adequação dos protocolos atuais usados nas biotecnologias da reprodução, para que se possa melhorar a eficiência dos protocolos de IATF nesta raça e, conseqüentemente, contribuir para uma efetiva difusão da genética destes animais e um aumento no desempenho reprodutivo dos rebanhos no Brasil.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Analisar os parâmetros reprodutivos de vacas Sindi (*Bos Taurus indicus*) tratadas com dois protocolos de sincronização da ovulação.

### **2.2 Específico**

Avaliar o efeito do eCG sobre os parâmetros reprodutivos e a taxa de prenhez em vacas da raça zebuína Sindi tratadas com dois protocolos de sincronização da ovulação.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fisiologia do Ciclo Estral

O ciclo estral é o ritmo funcional dos órgãos reprodutivos das fêmeas de animais domésticos que se estabelece a partir da puberdade. Compreende modificações cíclicas na fisiologia e na morfologia dos órgãos genitais e também no perfil dos hormônios sexuais relacionados. O ciclo estral se mostra diferente em cada espécie, onde se observa desenvolvimento dos folículos e manifestação de cio. Pode acontecer de apenas um folículo amadurecer ou vários amadurecerem dependendo da espécie (HAFEZ; HAFEZ, 2004).

O ciclo estral nos bovinos compreende quatro etapas, que são: proestro, estro, metaestro e diestro, sendo que ele também pode ser dividido em duas fases distintas, de acordo com o predomínio dos hormônios estrógeno ou progesterona. A primeira fase, chamada de folicular ou estrogênica, que se estende do proestro ao estro, se caracteriza pelo desenvolvimento do folículo, estrutura ovariana na qual se desenvolve o oócito, e culmina com a liberação do mesmo (ovulação), predominando a produção e secreção do hormônio estrógeno (17- $\beta$  estradiol). A segunda fase, denominada de fase luteínica ou progesterônica, que compreende o metaestro e o diestro, se caracteriza pelo desenvolvimento do corpo lúteo (CL), e é a fase em que predomina a produção e secreção do hormônio progesterona (P4), que é o hormônio responsável pela manutenção da gestação, sendo o término desta fase caracterizado pela luteólise (REIS, 2004). O proestro é o período de desenvolvimento folicular, que é subsequente à regressão lútea e termina no estro; estro é o período de receptividade sexual; metaestro é o período do desenvolvimento inicial do CL e diestro é o período da fase madura do CL (CUNNINGHAM, 1999).

A idade da puberdade no bovino ocorre, em média, aos doze meses de idade e o ciclo estral é do tipo poliéstrico, ciclando o ano inteiro (as fêmeas são poliéstricas anuais). O estro na vaca dura em média de 18 horas e a ovulação ocorre entre 10 a 12 horas após o final do mesmo (AIELLO, 2001). A duração do ciclo estral dos bovinos varia entre 17 e 25 dias, com intervalos médios de 20 dias para novilhas e 22 dias para vacas (SIROIS; FORTUNE, 1988). A média do ciclo estral quando mantidas as condições ambientais adequadas é de 21 dias: o proestro de três dias, o estro de 12 a 18 horas, o metaestro de dois a três dias e o diestro de aproximadamente 14 dias (GONÇALVES, 2001).

O ciclo estral resulta da interação coordenada dos tecidos do sistema nervoso central (hipotálamo-hipófise), ovário e útero. Essa comunicação entre estes órgãos ocorre principalmente mediante o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), produzido no hipotálamo; hormônio luteinizante (LH) e hormônio folículo estimulante (FSH), ambos produzidos na hipófise; estradiol (E2), progesterona (P4) e inibina, produzidos no ovário, e prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) produzida pelo útero (GONZÁLEZ, 2002).

O GnRH é um decapeptídeo sintetizado por células neuroendócrinas na área pré-óptica do hipotálamo e após ser liberado sob a forma de pulsos, atinge a adeno-hipófise através do sistema porta-hipotalâmico-hipofisário, onde determina a secreção das gonadotrofinas FSH e LH. Essas gonadotrofinas são liberadas de maneira pulsátil na circulação sistêmica e atuam nas gônadas regulando a gametogênese e secreção dos estrógenos gonadais (STANISLAUS et al., 1998 *apud* MACEDO, 2008).

O FSH estimula o crescimento e a maturação do folículo ovariano ou folículo pré-ovulatório. Este hormônio por si só não causa secreção de estrógenos no ovário, ao contrário,



ele necessita da presença do LH para estimular a produção estrogênica (HAFEZ; HAFEZ, 2004). O FSH influencia a produção de estrogênio, fazendo com que as células da granulosa convertam andrógenos, produzidos pelas células da teca interna por influência do LH, em estrógenos (FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004). O FSH induz receptores adicionais para o FSH, além de induzir a formação de receptores para o LH, enquanto que o LH diminui o número de receptores para FSH nas células da camada da granulosa (STABENFELD; EDQVIST, 1996 *apud* MACEDO, 2008).

O efeito da onda de LH na camada da granulosa é permitir o processo de luteinização que transforma as células produtoras de E2 em produtoras de P4. Com a chegada do LH, a secreção de E2 declina e inicia a secreção de P4 (CUNNINGAM, 1999). O 17 $\beta$ -estradiol (E-17 $\beta$ ) é produzido pelo folículo e induz o cio comportamental e, quando a P4 entra em declínio, eleva o LH (HAFEZ; HAFEZ, 2004). O LH secretado pela adeno-hipófise, é regulado pela P4 e E2 ovarianos. Durante a maior parte do ciclo estral, ambos os hormônios inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (MACEDO, 2008).

Níveis tônicos ou basais de LH atuam em conjunto com o FSH no sentido de induzir a secreção de estrógenos pelo folículo ovariano desenvolvido (HAFEZ; HAFEZ, 2004). A onda pré-ovulatória de LH começa em média 24 horas antes da ovulação na vaca e resulta na liberação o oócito (CUNNINGAM, 1999). Durante o cio comportamental, as fêmeas bovinas apresentam manifestações caracterizadas por imobilidade durante a monta, comportamento homossexual, descarga de muco vaginal, mugidos frequentes, intensa movimentação e aumento na frequência de micção. Fêmeas *Bos taurus indicus* geralmente apresentam estro de duração de aproximadamente 10 horas e mais de 50% dos animais desse grupo genético iniciam a manifestação de cio no período entre 18h00min e 06h00min (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Após a ovulação, as fêmeas apresentam um CL no local onde se encontrava o folículo dominante (FD). A principal função do CL é a produção da P4 que é essencial para a manutenção da gestação (CUNNINGAM, 1999). Depois de atingida a capacidade máxima, por volta do 12<sup>o</sup> dia, a produção de P4 se mantém até em torno do dia 16<sup>o</sup> e 17<sup>o</sup> do ciclo estral, quando ocorrerá a luteólise (REIS, 2004). O CL das vacas possui dois tipos de células luteínicas que são as células luteínicas grandes e as pequenas que se diferem na produção de hormônios (PRESTES; ALVARENGA, 2006). As células luteínicas pequenas absorvem mais colesterol, mas são menos sensíveis ao LH e produzem P4 em pulsos por um período curto. As células luteínicas grandes têm maior sensibilidade ao LH e absorvem colesterol das células pequenas, podendo secretar P4 por períodos mais longos (PRESTES; ALVARENGA, 2006).

Com relação à regressão do CL nos ruminantes, ela é realizada pela ação da PGF2 $\alpha$ , que é um hormônio da ação luteolítica cuja secreção é estimulada pelo hormônio ocitocina. A PGF2 $\alpha$  exerce um efeito local entre cada corno uterino e o seu ovário ipsilateral, sendo que esta é sintetizada pelas células endometriais e transportada ao ovário por uma via de transferência de contracorrente da veia uterina para a artéria ovariana (GINTHER, 1974 *apud* BERTAN et al., 2006). Vários estudos têm demonstrado que a PGF2 $\alpha$  produzida no corno uterino entra na artéria ovariana pela veia útero-ovariana e chega ao CL ipsilateral ao corno que a produziu. Esse percurso destinado ao transporte da PGF2 $\alpha$ , sem a passagem pela circulação periférica impede que esta seja imediatamente metabolizada pelos pulmões. Em fêmeas bovinas, recentemente foi relatada a existência de uma proteína transportadora de PGF2 $\alpha$  (PGT) que atua mediando o transporte deste hormônio pelas vias vasculares do endométrio para o ovário, auxiliando neste mecanismo de contracorrente (PIPER; VANE; WYLLIE, 1970).

Caso tenha ocorrido a concepção, o embrião implantado no endométrio irá estimular a síntese de uma proteína chamada trofoblastina ou interferon Tau, sendo este o sinal para a manutenção do CL durante a gestação. A produção desta substância inicia-se entre o 15° e o 17° dia de gestação, considerado o período crítico da gestação, e mantém-se elevada até o 22° dia, aproximadamente, garantindo assim a manutenção do CL por todo o período gestacional. Caso não ocorra a concepção na época do estro, poderá ser observado ao final do diestro (17° dia do ciclo) um rápido declínio dos níveis plasmáticos de P4 em função da involução do CL pela PGF2 $\alpha$ . Paralelamente se desfaz o bloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário, podendo-se observar um aumento gradativo das concentrações de FSH-LH, dando início ao período de pró-estro, que dura aproximadamente três dias, terminando com o estabelecimento de um novo estro (PALHANO, 2008).

## 3.2 Dinâmica Folicular Ovariana

### 3.2.1 Desenvolvimento Folicular Antral

O desenvolvimento folicular antral é um processo contínuo de crescimento e regressão de um grupo de folículos ovarianos, um dos quais se desenvolve até folículo pré-ovulatório (LUCY et al., 1992).

A ultrassonografia tem sido fundamental para demonstrar o padrão do crescimento folicular antral durante o ciclo estral em animais domésticos. O ciclo estral dos bovinos exibe uma média de duas a três ondas de crescimento, mas somente a última onda resulta em ovulação (AERTS; BOLS, 2010). As ondas de crescimento folicular aparecem durante os ciclos estrais, em novilhas pré-púberes (EVANS; ADAMS; RAWLINGS, 1994), durante a gestação (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989b), no período pós-parto e durante a lactação (SAVIO; BOLAND; ROCHE, 1990) e nos períodos de anestro (BOSSIS et al., 2000).

O crescimento folicular durante o ciclo estral segue a ordem cronológica do desenvolvimento pré-antral. No entanto, nem todos os folículos antrais são capazes de progredir durante o ciclo estral, sendo que a maioria deles se degenera (AERTS; BOLS, 2010). O destino final de mais de 99,9% dos folículos primordiais que estão presentes nos ovários ao nascimento é a degeneração (MORITA; TILLY, 1999). Em bovinos, protocolos hormonais que controlam o desenvolvimento folicular e a função lútea permitem a inseminação artificial (IA) em momento pré-determinado, potencializando a eficiência reprodutiva (BARROS; ERENO, 2004; BÓ et al., 2004; BURATINI Jr., 2006).

O tempo necessário para o desenvolvimento dos folículos até os estágios antrais é marcadamente diferente. A duração total do desenvolvimento do estágio de folículo primordial para o estágio de pré-ovulatório é estimado em 180 dias na vaca (LUSSIER; MATTON; DUFOUR, 1987).

Diferentemente do estágio pré-antral, o desenvolvimento folicular antral é criticamente dependente do suporte das gonadotrofinas (BURATINI Jr., 2006). Em várias espécies domésticas, os folículos antrais são recrutados e crescem simultaneamente em uma onda folicular sob o controle das gonadotrofinas (FORTUNE et al., 2001; GINTHER et al., 2001). Além da ação das gonadotrofinas, também se tornou evidente que fatores de crescimento produzidos localmente constituem moléculas estimuladoras e reguladoras chave para os folículos antrais, atuando por meio de mecanismos parácrinos e endócrinos (FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004; GINTHER et al., 2001; WEBB et al., 2003; BURATINI Jr., 2006).

Os bovinos têm dois estágios de desenvolvimento folicular antral, uma fase de crescimento lenta e uma fase rápida (FAIR, 2003; AERTS; BOLS, 2010). A primeira fase (lenta) abrange mais de 30 dias desde a formação do antro (folículos com aproximadamente 300  $\mu\text{m}$ ) até o estágio de folículos pequenos (entre 3 a 5 mm de diâmetro). A segunda fase usualmente abrange cerca de 5 a 7 dias, e inclui a emergência de uma onda de folículos, crescimento folicular, seleção de um folículo dominante, e um período de dominância variável, seguido de ovulação ou regressão do folículo pré-ovulatório (LUSSIER, MATTON; DUFOUR, 1987; AERTS; BOLS, 2010).

### 3.2.2 Padrão de Ondas de Crescimento Folicular

O estudo da dinâmica folicular durante o ciclo estral pode ajudar a esclarecer os fenômenos que interferem na sincronização do ciclo estral e na ovulação, assim como na resposta ovariana de fêmeas superovuladas, colaborando para o aumento da fertilidade (BARUSELLI, 1997).

Os trabalhos mais consistentes sobre o estudo da dinâmica folicular em bovinos foram realizados através dos exames ultrassonográficos dos ovários. O advento da ultrassonografia possibilitou estudar com maior facilidade e detalhamento o crescimento folicular, sem a necessidade de se abater os animais experimentais (PIERSON; GINTHER, 1987). Com essa técnica foi possível avaliar o surgimento das estruturas ovarianas e correlacioná-las com os eventos endocrinológicos em tempo real no decorrer do ciclo estral (BARUSELLI, 1997).

Esta técnica permitiu demonstrar a existência de ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral (SAVIO et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988; KNOPF et al., 1989; GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989a; GINTHER; KASTELIC; KNOPF, 1989b; DRIANCOURT, 1991; FORTUNE et al., 1991; ROCHE; BOLAND, 1991; MAPLETOFT; BÓ; PIERSON, 1994). Cada onda folicular dura aproximadamente 10 dias, podendo variar entre 6 e 15 dias (WILTBANK; GUMEN; SARTORI, 2002).

A onda folicular compreende o crescimento de um grupo de pequenos folículos antrais (4-5 mm de diâmetro), seguida da seleção de um folículo dominante e da regressão dos folículos subordinados (BARUSELLI, 1997). Os folículos dominantes que crescem e atingem seu diâmetro máximo no meio do ciclo estral, sob altos níveis de progesterona, não ovulam e iniciam um processo de regressão, permitindo o início de uma nova onda de crescimento folicular (MAPLETOFT; BÓ; PIERSON, 1994). O folículo dominante que se desenvolve durante a última onda de crescimento folicular de cada ciclo estral é o folículo ovulatório, e essa onda culmina com a ovulação (LUCY et al., 1992).

Estudos em bovinos demonstraram que o diâmetro máximo dos folículos durante o ciclo estral varia conforme a raça e a espécie (BARUSELLI, 1997). Trabalhos demonstraram diâmetros de folículos ovarianos inferiores para *Bos taurus indicus* (BARROS et al., 1993; RHODES; DE'ATH; ENTWISTLE, 1995), quando comparados aos de *Bos taurus taurus* (GINTHER; KASTELIC; KNOPF, 1989a). Em *Bos taurus taurus* com duas ondas de crescimento folicular são descritos diâmetros de 17,1 mm e 16,5 mm para a primeira e segunda onda, respectivamente (MACEDO, 2008). Já em *Bos taurus indicus* os diâmetros relatados foram de 11,3 mm e 12,1 mm, respectivamente, para fêmeas da raça Nelore (FIGUEIREDO et al., 1997); e 9,5mm e 10,5mm para fêmeas da raça Gir (GAMBINI et al., 1998). CAVALIERI et al. (2003) encontraram redução do diâmetro do folículo dominante após o tratamento com estrógeno e progestágenos em vacas leiteiras, indicando que o protocolo para sincronização da ovulação pode interferir no diâmetro folicular.

Na maioria dos bovinos, a emergência da primeira onda folicular ocorre no dia da ovulação (dia 0), independentemente do número de ondas durante todo o ciclo estral. A emergência da segunda onda ocorre no 9º ou 10º dia em animais com ciclos de duas ondas, e no 8º ou 9º dia em animais com ciclos de três ondas. Em ciclos de três ondas, a terceira onda emerge no 15º ou 16º dia (MAPLETOFT; STEWARD; ADAMS, 2002; AERTS; BOLS, 2010). O corpo lúteo (CL) inicia a regressão mais cedo em ciclos de duas ondas (dia 16) quando comparado a ciclos de três ondas (dia 19) tendo como resultado um ciclo estral mais curto (19-20 dias contra 22-23 dias). Assim, o chamado ciclo estral de 21 dias em bovinos existe somente como uma média entre ciclos de duas e três ondas (ADAMS et al., 2008).

Pesquisas sugerem que oócitos oriundos de ovulações de terceira onda são mais férteis do que aqueles oriundos de ovulações de segunda onda, pois estes últimos são maiores e mais velhos (TOWNSON et al., 2002; AERTS; BOLS, 2010).

Existe controvérsia na literatura quanto ao número de ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral (BARUSELLI, 1997). Em bovinos, trabalhos demonstraram que existe predominância de três ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral (SAVIO et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988). Outros autores, entretanto, encontraram com maior frequência duas ondas de crescimento (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989a; KNOPF et al., 1989). Foi observado que um pequeno número de animais apresentava uma onda de crescimento folicular, que resultava no folículo ovulatório (SAVIO; BOLAND; ROCHE, 1990; PERRY et al., 1991; BRUKE et al., 1994). Em bovinos, também foram encontrados animais com quatro ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral (SAVIO et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988; MAPLETOFT; BÓ; PIERSON, 1994; RHODES; DE'ATH; ENTWISTLE, 1995).

As variações no número de ondas podem ocorrer em função de vários fatores, como dieta, manejo, produção de leite, período de lactação e pós-parto imediato (GINTHER et al., 1996). O número de ondas durante o ciclo estral está relacionado com a duração do ciclo estral. Aqueles que apresentam maior duração da fase luteal e, conseqüentemente, do intervalo entre ovulações, apresentam maior número de ondas de crescimento folicular (BARUSELLI, 1997). RHODES; DE'ATH; ENTWISTLE (1995) encontraram fase luteal com concentrações de progesterona  $\geq 1,0$  ng/mL, que durou  $11,8 \pm 0,44$  dias para ciclos de três ondas, e  $14,2 \pm 0,2$  dias para ciclos de duas ondas de crescimento folicular ( $P < 0,05$ ). Dessa forma, o tratamento com progestágenos exógenos pode aumentar o número de ondas foliculares e a duração do ciclo estral (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989a).

### 3.2.3 Recrutamento

Cada onda de crescimento folicular pode ser subdividida nas fases de recrutamento, seleção e dominância (LUCY et al., 1992). Sabe-se que as gonadotrofinas hipofisárias, FSH e LH, atuam na manifestação, manutenção e suspensão destes eventos (GINTHER et al., 1996; AERTS; BOLS, 2010).

O recrutamento folicular foi definido como um processo dinâmico, por meio do qual um grupo de folículos inicia o desenvolvimento e maturação no ovário, estimulado pelo pico de liberação de FSH (ADAMS; MATTERI; GINTHER, 1992a) e iniciam uma fase de crescimento comum por cerca de três dias (GINTHER et al., 2003; MELO, 2009). Neste momento, esses folículos apresentam aproximadamente 4 mm de diâmetro, sendo responsivos e dependentes desta gonadotrofina (GINTHER et al., 2002; MELO, 2009).

O número de folículos que são recrutados varia em função de diversos fatores, como raça, manejo, nutrição e idade. Nos animais *Bos indicus*, são recrutados cerca de 30 folículos por onda de crescimento folicular (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

O FSH permite que os folículos mantenham seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade esteroidogênica (ADAMS et al., 1992b; MELO, 2009). A regressão do folículo dominante (FD) durante a onda de crescimento, ou a ovulação no final do ciclo estral causa uma elevação do FSH circulante. Esta regressão do folículo dominante é acompanhada pela diminuição dos níveis de hormônios sintetizados pelo

folículo, tais como estrógeno e inibina, resultando em um aumento temporário na secreção de FSH pela hipófise. Em consequência, o FSH é o principal responsável pelo recrutamento de um novo grupo de folículos antrais para a próxima onda de crescimento folicular (AERTS; BOLS, 2010).

### 3.2.4 Seleção e Dominância Folicular

A seleção folicular foi definida como o processo pelo qual somente um folículo é escolhido, evitando a atresia até alcançar a ovulação, estabelecendo-se então, o fenômeno da divergência folicular (LUCY et al., 1992; BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007). A divergência (ou desvio) folicular é definida pela diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, sendo marcada pela continuidade do desenvolvimento do maior folículo e declínio ou parada no crescimento dos outros (GINTHER et al., 1996). O diâmetro médio dos dois maiores folículos no início do desvio são 8,5 e 7,2 mm em novilhas *Bos Taurus*, e 6,2 e 5,9 mm em novilhas *Bos Indicus* (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007). Aparentemente, quando o maior dos folículos alcança certo estágio de crescimento, o rápido desenvolvimento do mecanismo do desvio bloqueia o crescimento do segundo maior folículo (subordinado) antes deste alcançar um diâmetro similar. Consequentemente, antes da seleção do folículo dominante, ocorre um processo de seleção que envolve uma ação contra os outros folículos na onda (GINTHER et al., 2003; AERTS; BOLS, 2010).

Com relação ao FSH, o aumento de seus níveis, responsável pelo início da onda de crescimento folicular, chega ao máximo quando os maiores folículos em animais *Bos Indicus* obtêm cerca de 4 a 5 mm (KULICK et al., 1999; AERTS; BOLS, 2010). Os níveis máximos deste hormônio durante a primeira onda de crescimento do ciclo são tipicamente vistos 28 horas após o início do estro (MIHM; AUSTIN, 2002; AERTS; BOLS, 2010).

A dominância folicular é o meio pelo qual um folículo selecionado exerce dominância sobre os demais folículos recrutados na mesma onda de crescimento folicular, suprimindo o crescimento dos mesmos e inibindo o recrutamento de um novo grupo de folículos (BARUSELLI, 1997). Quando o maior folículo da onda, após cerca de três dias de crescimento, obtêm um diâmetro de cerca de 8,5 mm, uma diferenciação aparece entre o futuro FD e os folículos subordinados remanescentes. Este momento é conhecido como divergência (GINTHER et al., 1997, 1998, 1999; BEG; GINTHER, 2006). Antes da divergência, todos os folículos em crescimento têm a capacidade de se tornarem folículos dominantes; após o desvio o maior folículo se desenvolve até se tornar o folículo dominante, enquanto que os outros folículos regridem (AERTS; BOLS, 2010).

O FD rapidamente se desenvolve no inibidor primário da secreção de FSH, mas ele é capaz de continuar seu crescimento, mesmo em níveis basais de FSH. As baixas concentrações de FSH têm a vantagem de impedir a emergência de um novo grupo de folículos (AERTS; BOLS, 2010). Inicialmente foi assumido que a diferenciação entre o FD e os folículos subordinados ocorre de maneira gradual, que começa no início do crescimento folicular. Contudo, investigações têm revelado que esta diferenciação é usualmente um evento abrupto (GINTHER et al., 1997), por meio do qual o folículo dominante, em um período crítico de cerca de 8 horas da divergência, marca a supressão do FSH, e consequentemente provoca a atresia dos folículos antrais remanescentes (GINTHER et al., 2000).

Estradiol, inibina-A e inibina-B são os principais produtos foliculares responsáveis pela supressão do FSH. A inibina-A, produzida por todos os pequenos folículos em

crescimento da onda, parece ser o supressor mais importante do FSH durante os dois primeiros dias da onda emergente, daí em diante o estradiol secretado pelo folículo dominante passa a ser o mais importante supressor do FSH (MELO, 2009). A produção e secreção de estradiol e inibina pelos folículos em crescimento resulta na supressão da liberação de FSH, apesar destes folículos serem ainda dependentes de FSH para continuar o seu crescimento. Na espécie bovina, folículos com 3 mm não suprimem a secreção de FSH, mas adquirem esta capacidade quando alcançam 5 mm de diâmetro; as concentrações médias então diminuem em um intervalo de cerca de 3 dias entre o pico de FSH e o início da divergência (GIBBONS; WILTBANK; GINTHER, 1999).

De acordo com GINTHER et al. (2001), no início da divergência folicular ocorrem alterações no desenvolvimento do maior folículo, que o tornam responsivo a baixas concentrações de FSH, as quais são inadequadas ao desenvolvimento dos outros folículos. Após a divergência, e na presença de altos níveis de progesterona, que promove a redução da frequência na pulsatilidade de LH, o folículo dominante torna-se anovulatório (GINTHER; KASTELIC; KNOPF, 1989b), o folículo dominante só se tornará ovulatório se os níveis de progesterona (P4), estiverem baixos, pois a progesterona bloqueia a liberação de LH e a ovulação; a diminuição nos níveis plasmáticos de progesterona permite o aumento dos níveis de estrógeno e conseqüentemente de LH, levando à ovulação (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Entre as alterações no desenvolvimento do FD que ocorrem no início da divergência, é geralmente aceito que o LH desempenha um fator chave durante este processo. Em novilhas, GINTHER et al. (2001) relataram que receptores de LH emergem nas células da granulosa do futuro FD 8 horas antes do início do desvio. Em folículos bovinos em geral, receptores de LH aparecem quando os folículos obtêm 8 mm de diâmetro. É assumido que o FD sofre uma transição na dependência de FSH para LH (MIHM et al., 2006), por meio do qual o FD é capaz de sobreviver e maturar mesmo em baixos níveis de FSH circulante. Entretanto, mesmo durante a dominância, níveis basais de FSH permanecem criticamente importantes para o FD (AERTS; BOLS, 2010). Uma redução experimental nos níveis circulantes de FSH pode resultar em parada no desenvolvimento do FD em bovinos, e na regressão do FD em algumas espécies (TURZILLO; FORTUNE, 1993; AERTS; BOLS, 2010).

A expressão de receptores de LH em células da granulosa também está associada à dominância folicular (BAO; GARVERICK, 1998). BEG et al. (2001) detectaram a expressão de RNAm do receptor de LH em maior concentração em futuros folículos dominantes comparados com seus subordinados antes do desvio folicular, o que os levou a sugerir que a expressão precoce do receptor de LH em células da granulosa seria um evento importante para a seleção folicular, embora não esteja claro se o aumento observado na expressão do receptor de LH é a causa ou a consequência do processo de dominância (ADAMS; JAISWAL, 2008; MELO, 2009).

Independente do papel do LH na divergência folicular, sabe-se que este tem ação importante no crescimento e desenvolvimento do folículo dominante após a divergência. Durante a dominância, mudanças funcionais do FD, tais como o declínio na razão intrafolicular de estradiol – progesterona (MIHM et al., 2006), são apontadas como importantes mudanças que preparam o folículo para a ovulação (AERTS; BOLS, 2020).

O efeito do GnRH é determinado pela frequência pulsátil, sendo que frequências rápidas promovem a liberação de LH e frequências lentas promovem a liberação de FSH (WILDT et al., 1981). O pulso gerador hipotalâmico é modulado por uma ampla variedade de sinais, alguns dos quais são estimulatórios (como aspartato), outros inibitórios (como ácido  $\gamma$ -aminobutírico) para a pulsatilidade. As funções específicas dos vários moduladores no padrão

da pulsatilidade na liberação do GnRH ainda precisam ser definidas, sendo que a progesterona inibe severamente a frequência pulsátil de GnRH (AERTS; BOLS, 2010).

O efeito de feedback do estradiol na secreção de gonadotrofinas ocorre em função de um limiar: quando as concentrações plasmáticas estão abaixo do limiar, o estradiol exerce um efeito de feedback negativo; já quando as concentrações estão acima do limiar, este exerce um efeito de feedback positivo (WILTBANK; GUMEN; SARTORI, 2002). Dessa forma, o aumento das concentrações periféricas de estradiol afeta positivamente a frequência pulsátil de GnRH, resultando em um aumento na secreção de LH (AERTS; BOLS, 2010).

Por outro lado, a síntese de estradiol pelo folículo também é influenciada por LH e FSH. A produção de receptores para andrógenos pelas células da teca é estimulada pelo LH. Estes andrógenos são posteriormente aromatizados em estradiol pelas células da granulosa por meio de uma enzima denominada aromatase, cuja expressão é estimulada pelo FSH (FORTUNE, 1994).

A secreção de estradiol, contudo, não parece ser o fator chave no mecanismo de seleção do folículo, e suas concentrações variam de acordo com o estágio fisiológico da vaca, sendo que baixas concentrações de estradiol são típicas em folículos que se desenvolvem no período pós-parto; médias concentrações em folículos que se desenvolvem na primeira onda de crescimento, e altas concentrações em folículos que se desenvolvem na fase folicular do ciclo estral (DRIANCOURT, 2000; AERTS; BOLS, 2010).

Há fortes evidências de que o sistema IGF (fator semelhante à insulina) desempenha um papel crítico na seleção do folículo dominante (BURATINI Jr., 2006). Os IGFs são sinérgicos ao FSH na promoção do crescimento folicular e produção de estradiol (FORTUNE; RIVERA; YANG, 2004). O IGF I e II ativam os receptores de IGF tipo I e II, ambos presentes nas células da camada da granulosa e da teca (SPICER, 2004; BURATINI Jr., 2006). Os níveis de IGF total não são diferentes no fluido folicular de folículos dominantes em relação aos folículos subordinados, mas os níveis de IGF I livre são maiores no fluido folicular do maior folículo comparado ao segundo maior da mesma onda, antes da observação de diferenças na concentração de estradiol ou diâmetro (BEG et al., 2002), o que reforça a ideia de que o sistema IGF atua no processo de seleção do folículo dominante (BURATINI Jr., 2006).

A ocorrência de mais de um folículo dominante durante a onda de crescimento folicular em animais que normalmente ovulam somente um folículo pode ser considerada um defeito no mecanismo de desvio (KASTELIC, 2004). Duplas ovulações são usualmente devido à codominância, mas ocasionalmente os folículos se originam de ondas diferentes. A incidência de dupla ovulação é muito maior em vacas leiteiras de alta produção (20%), quando comparada com vacas de baixa produção de leite (7%) (FRICKE; WILTBANK, 1999; KASTELIC, 2004). Vacas leiteiras de alta produção possuem aumento nas taxas de catabolismo dos esteroides devido ao fluxo sanguíneo hepático aumentado; devido à redução das concentrações sanguíneas de estradiol, as concentrações de FSH sanguíneo aumentam o suficiente para mais de um folículo se tornar dominante e ovular (WILTBANK et al., 2000; KASTELIC, 2004).



### 3.2.5 Maturação folicular, Ovulação e Formação do Corpo Lúteo

O folículo ovulatório é formado a partir da última onda folicular do ciclo estral, sendo que folículos dominantes de ondas anteriores entram em processo de atresia. Esta atresia é determinada pela presença de um corpo lúteo ativo no ovário, com adequada produção de progesterona (MELO, 2009). Este hormônio exerce um efeito de retroalimentação negativa no eixo sistema nervoso central – hipotálamo – hipófise – ovários, reduzindo a amplitude e frequência dos pulsos de LH, o que inviabiliza os processos de maturação final do oócito e do folículo e ovulação (GINTHER et al., 1996). Já o crescimento do folículo dominante em ambiente com baixa concentração de progesterona promove o aumento das concentrações de estrógenos, que desencadeia o mecanismo de retroalimentação positiva para a secreção do GnRH e o consequente pico de LH, promovendo a ovulação (FORTUNE, 1993). Após a ovulação, as células que permanecem no folículo rompido proliferam e formam o corpo lúteo, cuja função, nesse caso, domina o ciclo do dia 4 o dia 17 (BALL; PETERS, 2006 *apud* MACEDO, 2008).

Em mamíferos, os pulsos pré-ovulatórios de LH são extremamente importantes para a maturação do folículo e ovulação (AERTS; BOLS, 2010). Em resposta ao surgimento de LH no meio do ciclo, prostaglandinas da série E são produzidas pelo folículo, que são cruciais para a ruptura do folículo e liberação do oócito (FILION et al., 2001). Além disso, é assumido que o LH estimula e prepara as células das camadas granulosa e teca para a luteinização (SMITH; MCLINTOSH; SMITH, 1994). As células do *cumulus* começam a sintetizar ácido hialurônico, o que permite a sua expansão através do alargamento do espaço entre as células da granulosa (EPPIG, 2001). Pulsos episódicos de LH são necessários para a formação do CL em bovinos, mas não são requeridos para a manutenção da função luteal (AERTS; BOLS, 2010).

As frequências pulsáteis de LH durante o ciclo estral bovino são: 9 – 16 pulsos/24 horas na fase luteal inicial; 6 pulsos/24 horas na fase luteal média; e 14 – 24 pulsos/24 horas durante a fase folicular (GINTHER et al., 1998; MIHM; AUSTIN, 2002; AERTS; BOLS, 2010).

O primeiro FD do ciclo geralmente emerge enquanto o CL ainda está ativo. Devido à secreção de progesterona, o CL afeta negativamente a frequência pulsátil de LH, resultando em uma menor frequência pulsátil na fase luteal média e atresia do FD dependente de LH (AERTS; BOLS, 2010). A luteólise durante a fase de dominância do segundo FD resultará na ovulação deste folículo. Contudo, se o CL permanecer ativo, a secreção de progesterona e a resultante supressão de LH causará a regressão do segundo FD (AERTS; BOLS, 2010). O FD somente se beneficiará do aumento das frequências pulsáteis de LH na fase folicular, que promoverão maturação e finalmente ovulação (MIHM; AUSTIN, 2002).

### 3.3 Sincronização do Estro e da Ovulação

A inseminação artificial é uma técnica consagrada e viável para acelerar o avanço genético e o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, em todo mundo, existem relatos que indicam a baixa taxa de serviço em bovinos, devido principalmente a comprometimentos na eficiência da detecção de estros (MELO, 2009). Este problema é ainda mais destacado em rebanhos *Bos taurus indicus* ou em seus cruzamentos, devido às particularidades no comportamento reprodutivo, como estro de curta duração com elevada porcentagem de manifestação noturna (BARUSELLI; MARQUES, 2002).

Para evitar o problema da detecção de estro em rebanhos de cria, foram desenvolvidos protocolos de sincronização que permitem inseminar um grande número de animais num período de tempo estabelecido (MELO, 2009). Estes tratamentos são conhecidos como protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), e se dividem entre os que utilizam combinações de GnRH e PGF2 $\alpha$ , e os que utilizam dispositivos com progesterona ou progestágenos (análogos sintéticos da progesterona) e estradiol (BARUSELLI; MARQUES, 2002; MELO, 2009).

Em bovinos de corte, tão importante quanto a própria prenhez, é como esta se distribui dentro da estação reprodutiva (MELO, 2009). A sincronização do estro se constitui numa técnica que contribui para aperfeiçoar a utilização do tempo, mão-de-obra e recursos financeiros por encurtar o período de parição, proporcionando aumento de peso e uniformidade dos rebanhos (DAHLEN et al., 2003; MELO, 2009).

Os programas de sincronização da ovulação para IATF procuram induzir a emergência de uma onda de crescimento folicular sincronizada, controlar a duração do crescimento folicular e da fase luteínica até o estágio pré-ovulatório, sincronizar a retirada da progesterona exógena e endógena e induzir a ovulação sincronizada em todos os animais tratados (BARUSELLI, 2004; MELO, 2009).

Como vantagens da IATF podem-se destacar: eliminar a necessidade de detecção de estro; evitar inseminações das vacas fora do momento certo, diminuindo o desperdício de sêmen, material e mão-de-obra; induzir a ciclicidade em vacas em anestro transicional; diminuir o intervalo entre partos, aumentando o número de bezerros nascidos; possibilitar a programação das inseminações em curto período; concentrar o retorno do estro das fêmeas falhadas na primeira inseminação em tempo fixo, facilitando o diagnóstico de estro no repasse; possibilitar altas taxas de prenhez no início da estação de monta; concentrar a mão-de-obra, diminuindo o número de horas exatas com inseminadores; diminuir o descarte e o custo de reposição de matrizes do rebanho; e diminuir o investimento com touros (BARUSELLI, 2004; MELO, 2009).

No entanto, a escolha do protocolo de sincronização deve levar em consideração alguns aspectos como a categoria animal, a ciclicidade do rebanho e o escore de condição corporal (ECC). O ECC é um dos fatores mais importantes para o sucesso da IATF, sendo que os resultados de prenhez podem variar desde 25% (vacas com cria ao pé e ECC de 2,5) a um máximo de 75% (novilhas com ECC 3,0). O ECC de vacas e novilhas ao início de um protocolo de sincronização de estro não deve ser menor que 2,5 (em uma escala de 1,0 a 5,0) para que sejam alcançados resultados aceitáveis de prenhez (CUTAIA et al., 2003; MELO, 2009).

### 3.3.1 Sincronização do estro com o uso de Prostaglandina F2 $\alpha$

A PGF2 $\alpha$  e seus análogos têm sido os agentes farmacológicos mais utilizados no tratamento para sincronização do estro em fêmeas bovinas (ODDE, 1990). O sucesso da sincronização do estro com PGF2 $\alpha$  é dependente da presença de um CL, pois a função da PGF2 $\alpha$  é provocar a regressão morfológica e funcional do CL (RATHBONE et al., 2001; MELO, 2009).

Uma maior taxa de regressão do CL é obtida quando a PGF2 $\alpha$  é administrada entre os dias 6 e 17 do ciclo estral (VASCONCELOS, 1998). A PGF2 $\alpha$  não induz efetivamente a luteólise durante os cinco ou seis dias após o estro. Acreditava-se que essa falta de responsividade do CL imaturo fosse devido a uma deficiência em número ou afinidade de receptores para a PGF2 $\alpha$ , porém, foi demonstrada a presença de receptores com alta afinidade para a PGF2 $\alpha$  no CL a partir de dois dias após a ovulação. Foi observado então que o CL maduro possui um sistema de *feedback* positivo que resulta na produção intraluteal de PGF2 $\alpha$ , possibilitando a continuidade do processo luteolítico iniciado por uma única aplicação de PGF2 $\alpha$  (WILT BANK, 1997).

Geralmente, os tratamentos usados para a sincronização de receptoras consistem na administração de duas doses de PGF2 $\alpha$  com intervalos de 11 a 14 dias (BROADBENT et al., 1993). Nas fêmeas em que se verifica efetivamente a luteólise, a ocorrência do estro é distribuída em um intervalo de 2 a 6 dias (geralmente 3 dias após), o que torna impraticável a IATF em protocolos que utilizam apenas PGF2 $\alpha$  (BÓ et al., 2002). A variação no intervalo entre a aplicação da PGF2 $\alpha$  até o estro e a ovulação ocorre devido a diferenças no estágio de desenvolvimento das ondas foliculares no momento do tratamento (MAPLETOFT; BÓ; ADAMS, 2000).

Quando o tratamento é realizado na presença de um folículo dominante em fase final de crescimento ou no início da fase estática, a ovulação ocorre dentro de 3 a 4 dias. Por outro lado, se a PGF2 $\alpha$  for aplicada quando o FD estiver no meio ou no final da fase estática, a ovulação ocorrerá cinco a sete dias depois, ou seja, após o desenvolvimento do FD da próxima onda folicular (KASTELIC; GINTHER, 1991). Portanto, a variabilidade do intervalo entre o tratamento e a ovulação com a utilização da PGF2 $\alpha$  e seus análogos reforça a necessidade de controlar tanto o desenvolvimento luteal quanto folicular em protocolos cujo objetivo é a IATF (MELO, 2009).

### 3.3.2 Sincronização do estro com o uso de Progesterona ou Progestágenos

As limitações para a detecção do estro têm estimulado os pesquisadores a empregarem drogas para induzi-lo em períodos determinados (PORTO FILHO, 2004). Em geral, os dois sistemas mais utilizados para encurtar ou prolongar a fase luteínica do ciclo estral são os agentes luteolíticos e as drogas a base de progesterona. Tais métodos, embora adequados para programar o estro, são ineficientes para promover altas taxas de concepção à IATF (PORRAS; GALINA, 1992).

Os tratamentos utilizados com este fim incluíam longos períodos (12 a 14 dias) de administração de progesterona os quais possibilitavam uma boa sincronia dos estros e ovulações, porém associadas com fertilidade variável e, em geral, menor que a dos animais controle (ROCHE, 1974). O uso de tratamentos com essa duração tinha por objetivo superar a

duração de um possível CL existente no ovário (MELO, 2009).

A progesterona é eficiente, pois ela inibe o estro, a ovulação e altera a dinâmica folicular, atuando sobre o hipotálamo e regulando a liberação de GnRH (MIHM; AUSTIN, 2002; MELO, 2009) e, conseqüentemente, do LH. Assim, a administração de progesterona/progestágeno por um período suficiente para permitir a regressão natural do CL pode promover o estro sincronizado, uma vez que a supressão do tratamento progestacional leva à ocorrência do pico de LH e à ovulação (KESNER; PADMANABHAN; CONVEY, 1982).

Apesar de esses tratamentos serem efetivos para a sincronização do estro, a fertilidade deste estro é reduzida (ODDE, 1990). Isto ocorre porque os sistemas de liberação lenta de progesterona/progestágeno não mimetizam o CL em suprimir o LH. Na ausência de CL, tais tratamentos produzem concentrações subluteais de progesterona e permitem que os pulsos de LH aumentem até uma frequência intermediária, o que prolonga o crescimento do foliculo dominante (SIROIS; FORTUNE, 1990), resultando em baixas taxas de prenhez (MIHM et al., 1994; AUSTIN et al., 1999) devido à ovulação de oócitos envelhecidos (MELO, 2009).

Posteriormente, a combinação desses tratamentos com benzoato de estradiol (BE) ou valerato de estradiol (VE) possibilitou a diminuição do tempo de exposição à progesterona (MELO, 2009). Esses tratamentos tinham por objetivo estender artificialmente a fase luteal (com o uso de progesterona/progestágeno) e iniciar uma luteólise antecipada (com o uso de estrógenos) de maneira tal que, ao finalizar o tratamento com progesterona/progestágeno, iniciaria uma fase de proestro e se produziria estro e ovulação em dois a três dias (ALBERIO; BUTLER, 2001; MELO, 2009).

O estrógeno, quando associado à progesterona ou progestágeno, promove o crescimento sincronizado de uma nova onda de crescimento folicular cerca de 4 a 5 dias após a sua aplicação, independente do estágio do ciclo estral no qual o tratamento é iniciado (BÓ et al., 1995; ROCHA, 2000). Quando administrado pouco tempo após a ovulação, o estradiol aparentemente age como antiluteotrófico (DRIANCOURT, 2000; MELO, 2009), e quando administrado na presença de um CL ativo, geralmente é luteolítico, apesar da habilidade para induzir a regressão do CL ser mais limitada nos primeiros dias de atividade do CL (dias 3 a 5 pós-ovulação) do que mais tarde (PRATT et al., 1991). Falhas na regressão do CL pela ação do estradiol resultam em falhas na sincronização (DRIANCOURT, 2000; MELO, 2009).

Outra possibilidade de associar os tratamentos de curta duração com progesterona/progestágeno com um agente capaz de eliminar o CL surgiu com a disponibilidade comercial de análogos sintéticos da prostaglandina F<sub>2</sub> $\alpha$  (ALBERIO; BUTLER, 2001; MELO, 2009). Em uma série de estudos realizados por SMITH et al. (1984) observou-se que tratamentos de 8 dias com progesterona/progestágeno finalizados com uma aplicação de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  produziam uma apropriada sincronia de estros para realizar a IA e obter fertilidade normal em novilhas (MELO, 2009).

Os tratamentos estudados e utilizados até as décadas de 70 e 80 foram desenvolvidos sem os conhecimentos dos padrões de desenvolvimento folicular (MELO, 2009). Somente com a intensificação do uso da ultrassonografia como meio diagnóstico pode-se determinar com precisão o desenvolvimento das ondas foliculares. Observando-se tal padrão folicular, foi demonstrado que as altas doses de estradiol administradas nos tratamentos originais de sincronização de estro não somente produziam uma luteólise antecipada como também produziam mudanças nos padrões de desenvolvimento folicular (ALBERIO; BUTLER, 2001).

Os pesquisadores passaram a observar que combinando a regulação da fase folicular com a fase lútea era possível obter um apropriado controle do ciclo estral com uma sincronia

uniforme do estro e ovulação com fertilidade normal (MELO, 2009). Segundo DRIANCOURT (2000) eficientes protocolos de sincronização do estro precisam induzir a atresia dos maiores folículos presentes nos ovários, independente do estágio de desenvolvimento, resultando no recrutamento de uma nova onda de crescimento folicular, desenvolvimento sincronizado de um novo folículo dominante em todas as fêmeas e a ovulação em momento pré-determinado. Este objetivo tem sido alcançado com os protocolos de sincronização associando progestágenos, estradiol e prostaglandina, o que tem possibilitado um avanço no uso da IATF (BÓ; BARUSELLI; MARTINEZ, 2003).

Os principais métodos de administração de progesterona/progestágeno utilizados em bovino são os implantes subcutâneos de Norgestomet – associados ao valerato de estradiol (VE), tais como CRESTAR<sup>®</sup> e SYNCROMATE B<sup>®</sup> e os dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona, associado ou não ao estrógeno, tais como CIDR<sup>®</sup> (*Controlled Internal Drug Release*) e PRID<sup>®</sup> (*Progesterone Releasing Intravaginal Device*), e a administração de progestágeno no alimento (GREGORY, 2002; MORAES, 2002a; MELO, 2009). Recentemente, mais dois dispositivos intravaginais de liberação de P4 foram lançados: o *Bovine Intravaginal Device* (DIB<sup>®</sup>) e o Cronipress<sup>®</sup> (PORTO FILHO, 2004).

SIROIS; FORTUNE (1990) observaram que os progestágenos também podem atuar sobre os folículos dominantes, mas RAJAMAHENDRAN; TAYLOR (1991) não verificaram qualquer efeito do progestágeno sobre o curso normal da dinâmica folicular durante o diestro. Esses autores constataram que o folículo dominante permaneceu enquanto durou o tratamento quando este foi realizado no pró-estro e, conseqüentemente, não houve crescimento de folículos pequenos ou médios (PORTO FILHO, 2004).

Quanto aos estrógenos, diferentes tipos de ésteres de estradiol, incluindo benzoato de estradiol (BE), valerato de estradiol (VE) e cipionato de estradiol (ECP) estão disponíveis comercialmente na América do Sul (MELO, 2009). Todos estes ésteres são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (BÓ et al., 1995).

O estrógeno pode estimular ou inibir a concentração de gonadotrofinas, dependendo da dose e das concentrações sanguíneas de progesterona (MELO, 2009). Em doses fisiológicas e baixas concentrações de progesterona, o estrógeno estimula a liberação de LH para que ocorra a ovulação. Ao contrário, elevadas doses de estrógenos, na presença de elevadas concentrações de progesterona, bloqueiam as gonadotrofinas, inibindo principalmente a produção e liberação de LH. Além disso, o estrógeno é fundamental para a expressão de receptores para ocitocina no endométrio, o que é importante no processo de liberação de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  para a regressão do corpo lúteo (MORAES, 2002b; MELO, 2009).

A importância da utilização do estradiol no início do protocolo de sincronização de estro consiste em suprimir o desenvolvimento folicular existente, devido ao aumento das concentrações plasmáticas de estradiol que, por sua vez, ocasiona uma redução nas concentrações plasmáticas de FSH. Uma vez que as concentrações de estradiol declinam, uma liberação sincronizada de FSH e a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular ocorrem (MARTINEZ; BÓ; MAPLETOFT, 2004).

A duração da supressão das gonadotrofinas pode ser afetada pela concentração e pelo tipo de estradiol utilizado, pela concentração de progesterona e por características individuais entre animais que se encontram em diferentes estágios reprodutivos (MACMILLAN; SEGWAGWE; PINO, 2003; PORTO FILHO, 2004).

LANE et al (2001), ao sincronizarem novilhas de corte com dispositivo de liberação de progesterona e BE, não obtiveram diferença entre os dois grupos com relação à manifestação de estro, mas as novilhas às quais foi administrado BE, independente da fase

folicular em que se encontravam no início do tratamento, apresentaram menor intervalo entre a retirada do dispositivo e o início do estro (45 versus 59h,  $P < 0,05$ ). No grupo que estava em fase de dominância folicular no início do tratamento, as fêmeas que receberam o BE apresentaram maior taxa de prenhez (84%) que aquelas que não o receberam (65%), indicando que o tratamento com BE como indutor da ovulação pode ser eficiente em protocolos para a sincronização da ovulação em novilhas de corte, melhorando a eficiência destes protocolos (MELO, 2009).

Ao compararem a utilização de CIDR<sup>®</sup> + E-17 $\beta$ , de CIDR<sup>®</sup> exclusivamente, e de duas aplicações de PGF2 $\alpha$  em intervalo de 11 dias em novilhas de corte, BÓ et al. (1994) observaram que 75% das novilhas do grupo CIDR<sup>®</sup> + E-17 $\beta$  ovularam entre 72 e 84 horas após a retirada do implante, as novilhas que receberam somente o CIDR<sup>®</sup> apresentaram taxa de ovulação de 33% e as novilhas que receberam PGF2 $\alpha$  atingiram índice de ovulação de 40%, estes dois últimos grupos também entre 72 e 84 horas após a retirada do implante. Estes resultados apontam para a utilização de protocolos com CIDR<sup>®</sup> e BE em novilhas, como um método satisfatório para se obter uma boa sincronia do desenvolvimento folicular e luteínico, e a ovulação em momento oportuno do ciclo estral (MELO, 2009).

MACMILLAN (1999) comparou a utilização do CIDR<sup>®</sup> por 7 (G1) ou 8 (G2) dias, associado a BE no D0 (inserção do dispositivo), PGF2 $\alpha$  no momento da retirada deste e BE 48 horas após a aplicação de PGF2 $\alpha$ . Houve maior concentração de estros um dia depois do tratamento no G2 (97,5%), e dois dias depois do tratamento no G1 (80,3%). As taxas de concepção dos dois grupos foram semelhantes (45,2% no G1 e 47,4% no G2), indicando que os dispositivos de liberação de progesterona podem ser mantidos por 7 a 9 dias sem comprometimento nas taxas de concepção de prenhez (PORTO FILHO, 2004).

Para verificar qual o melhor momento para a aplicação do agente luteolítico associado ao CIDR<sup>®</sup> + BE, SÁ FILHO et al. (2003) dividiram 35 novilhas de corte em dois grupos. O grupo 1 (G1) recebeu o agente luteolítico no D7, sendo D0 o dia da inserção do dispositivo intravaginal, e o grupo 2 (G2) recebeu o agente luteolítico no D9, juntamente com a retirada do dispositivo intravaginal. O G1 apresentou tendência ( $P=0,13$ ) a maior taxa de concepção na IATF (64,7%, 11/17) do que o G2 (38,9%, 7/18). Para os autores, isso poderia ser decorrente na manutenção de uma única fonte de progesterona nos animais tratados no D7, o que faria que os níveis de P4 fossem mantidos a níveis subluteais, aumentando a pulsatilidade do LH, promovendo a manutenção e crescimento do folículo dominante, aumentando o seu diâmetro e, conseqüentemente, favorecendo a formação de um CL com maior diâmetro (MELO, 2009).

LAMMOGLIA et al. (1998) observaram que a administração de BE 24 a 30 horas após a retirada do implante de progesterona em vacas e novilhas resultou em um maior pico na concentração de 17- $\beta$  estradiol, maior número de animais demonstrando estro, maior número de animais apresentando o pico pré-ovulatório de LH e redução do intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH. A aplicação de 0,5 a 1mg de BE 24 horas após a retirada dos implantes de progesterona sincroniza o estro e a ovulação, aumentando inclusive a porcentagem de fêmeas bovinas que ovulam após o tratamento (MACMILLAN, 1999; MELO, 2009).

O tratamento com BE promove a liberação de um pico de LH dentro de um intervalo de 16 a 30 horas (LAMMOGLIA et al., 1998). A administração de GnRH induz um pico de LH que se inicia logo após a sua aplicação (em torno de 15 minutos). Da mesma forma, os fármacos que agem diretamente nos receptores de LH (tais como o eCG) tem sua ação estabelecida logo após a sua absorção (MELO, 2009).

### 3.3.3 Uso do eCG na sincronização da ovulação para IATF

Apesar dos elevados índices de sincronização do estro e da ovulação alcançados com os diversos tratamentos existentes, nem sempre os resultados são traduzidos em prenhez (PORTO FILHO, 2004). RAJAMAHENDRAN; THAMOTHARAM (1983) sugerem que as baixas taxas de prenhez obtidas com tratamentos à base de progesterona ou progestágenos podem ser decorrentes da assincronia entre os estros e o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação, devido ao retardo na seleção do folículo ovulatório e ao estágio do ciclo estral no qual o tratamento é iniciado.

Em bovinos, as principais causas de infertilidade são o anestro pós-parto e a baixa condição nutricional. Nesse sentido, existem vários aspectos da fisiologia reprodutiva que alteram o metabolismo de vacas leiteiras de alta produção. Em bovinos de corte, o anestro pós-parto tem se constituído em uma condição fisiológica natural, induzido pelo efeito da amamentação, e está intimamente relacionado às condições nutricionais. Ambas as situações fisiológicas interferem no sucesso da aplicação da IATF em bovinos (CARVALHO, 2004). Além da baixa condição nutricional (BÓ et al., 2001), também as baixas concentrações plasmáticas de P<sub>4</sub> tem sido citadas como possíveis causas das reduzidas taxas de prenhez em bovinos (BINELLI et al., 2001; PORTO FILHO, 2004).

Dessa maneira, estratégias que possibilitem elevar as concentrações de P<sub>4</sub> podem ser fundamentais para o desenvolvimento do conceito e para inibir a síntese de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  que geralmente ocorre no período crítico de gestação, cerca de 15 a 17 dias pós IA. Neste contexto, a gonadotrofina coriônica equina (eCG), que possui atividade biológica similar ao hormônio folículo estimulante (FSH) e ao hormônio luteinizante (LH), poderia ser utilizada (BINELLI et al., 2001; PORTO FILHO, 2004).

O eCG possui meia-vida de aproximadamente 46 horas, e é a única gonadotrofina capaz de se ligar tanto aos receptores de FSH como aos de LH, isto é, possui atividade folículo estimulante e luteinizante (MURPHY; MARTINUK, 1991). Assim, o eCG, ao se ligar aos receptores de FSH e LH do folículo, pode promover o crescimento, maturação folicular e ovulação (BARUSELLI et al., 2008). O eCG também pode se ligar aos receptores de LH do corpo lúteo, promovendo um aumento das células luteais grandes, que são responsáveis por cerca de 80% da síntese de P<sub>4</sub>, conferindo-lhe maior volume e maior capacidade de produção de P<sub>4</sub> (SOUZA et al., 2009), tanto que alguns autores têm apontado o uso do eCG como ferramenta potencial para melhorar as concentrações plasmáticas de P<sub>4</sub> em ciclos estrais subsequentes (BARUSELLI et al., 2000).

O tratamento com eCG no momento da retirada do implante de P<sub>4</sub> vem sendo utilizado para melhorar os índices de fertilidade, por meio de mudanças no padrão de crescimento folicular e função do corpo lúteo (BARUSELLI et al., 2004a,b; SOUZA et al., 2009). A melhora na fertilidade de vacas tratadas com esta gonadotrofina pode ser explicada por três efeitos: o eCG pode aumentar o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF; pode melhorar a taxa de ovulação e pode aumentar as concentrações plasmáticas de progesterona durante a fase luteal subsequente (SÁ FILHO et al., 2010a).

O eCG, quando administrado a vacas em anestro, cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação, mesmo em vacas que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas (BARUSELLI et al., 2008). Seu uso também tem apresentado efeito positivo em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade (anestro), em animais recém-paridos (período pós-parto inferior a dois meses), em animais com condição corporal comprometida ( $\leq 2,5$  na escala de 1 a 5; BARUSELLI et al., 2004c) e em animais que

apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante devido a altos níveis de progesterona ao final do tratamento de sincronização da ovulação (MARQUES et al., 2005; BARUSELLI et al., 2008).

O eCG também pode ser utilizado para melhorar as concentrações de progesterona e, conseqüentemente, aumentar as taxas de prenhez (BINELLI et al., 2001). Dessa forma, uma alternativa para aumentar a taxa de prenhez nos programas de IATF de bovinos em anestro pode ser a adição de 300 a 500 unidades internacionais (UI) de eCG no momento da remoção do dispositivo de liberação de P4 (MACMILLAN; PETERSON, 1993; ROCHE; CROWE; BOLAND, 1992; CARVALHO, 2004). Os resultados dos experimentos de MACMILLAN; BURKE (1996) mostram que aproximadamente 90% das vacas em anestro tratadas com P4 seguida de uma dose de 1,0mg de BE i.m. podem ser submetidas à IATF. Estes dados sugerem que o anestro de vacas com condição corporal pouco satisfatória no início do pós-parto pode ser beneficiado com o uso do eCG em associação ao tratamento de P4 intravaginal (ROCHE; CROWE; BOLAND, 1992; CARVALHO, 2004).

O tratamento com eCG também pode aumentar a taxa de crescimento dos folículos, resultando em um folículo pré-ovulatório maior e, por conseqüência, em um CL maior ou, ainda, estimular o crescimento de vários folículos que poderiam ser induzidos a ovular e formar vários corpos lúteos (PORTO FILHO, 2004).

Diversos autores vêm observado um aumento nas taxas de crescimento folicular e de ovulação com o uso do eCG (SÁ FILHO et al., 2010b). SALES et al. (2011), ao avaliarem o crescimento folicular, a ovulação e a fertilidade em vacas Nelores lactantes e em anestro, observaram um aumento no diâmetro máximo do folículo dominante ( $12,9 \pm 0,3\text{mm}$  e  $13,9 \pm 0,2\text{mm}$ ,  $P=0,006$ ) e na taxa de crescimento do folículo dominante ( $0,95 \pm 0,1\text{mm/dia}$  e  $1,40 \pm 0,1\text{mm/dia}$ ,  $P=0,006$ ) nos animais tratados com 400UI de eCG, sendo observada diferença estatística entre os grupos para ambos os parâmetros.

Da mesma forma, SÁ FILHO et al. (2010a), ao avaliarem o efeito do eCG na fertilidade de vacas Nelores lactantes e em anestro, observaram um aumento no diâmetro máximo do folículo dominante ( $9,4 \pm 1,1\text{mm}$  e  $11,2 \pm 0,9\text{mm}$ ,  $P=0,03$ ) e na taxa de crescimento do folículo dominante ( $0,56 \pm 0,2\text{mm/dia}$  e  $1,50 \pm 0,1\text{mm/dia}$ ,  $P<0,0001$ ) nos animais tratados com 400UI de eCG, sendo que os autores também verificaram diferença estatística entre os grupos para ambos os parâmetros. Em outro estudo, SÁ FILHO et al. (2010b), ao avaliarem o efeito do eCG em protocolos para IATF em novilhas Nelores cíclicas ou acíclicas, também obtiveram um efeito significativo do eCG no diâmetro máximo do folículo dominante ( $9,5 \pm 0,2\text{mm}$  e  $10,6 \pm 0,2\text{mm}$ ,  $P=0,003$ ) e na taxa de crescimento do folículo dominante ( $0,6 \pm 0,1\text{mm/dia}$  e  $1,1 \pm 0,1\text{mm/dia}$ ,  $P=0,0009$ ) nos animais tratados com 400UI de eCG. Estes resultados indicam um efeito positivo do eCG sobre estes parâmetros reprodutivos, por estimular o crescimento folicular e a ovulação em vacas em anestro, e deste modo aumentar a eficiência dos protocolos para IATF em animais que se encontram nesta situação fisiológica.

Muitos dos relatos constantes da literatura indicam a utilização do eCG para promover o aumento do folículo dominante e conseqüentemente das concentrações plasmáticas de progesterona (maior massa luteal) após a realização da IA, com o intuito de melhorar as taxas de concepção (PORTO FILHO, 2004). MARQUES et al. (2003) observaram aumento nas concentrações plasmáticas de P4, doze dias após a ovulação, em vacas de corte que receberam 400UI de eCG associado a dispositivos intravaginais de P4 para IATF ( $8,1 \pm 0,9 \text{ ng/ml}$ ;  $P<0,05$ ). Os resultados de BARUSELLI et al. (2004b) em novilhas corroboram tais achados. Animais tratados com 400UI de eCG no dia 8 (D8) associado a dispositivos intravaginais de P4 apresentaram concentração plasmática de progesterona maior do que aqueles não tratados



( $1,3 \pm 0,2$  e  $3,4 \pm 0,6$  ng/mL;  $P < 0,05$ ). Portanto, protocolos de sincronização da ovulação associados a aplicações de eCG e progesterona ou progestágenos podem aumentar a taxa de prenhez, pois promovem o desenvolvimento folicular, ovulações sincronizadas e aumento das concentrações de progesterona (PORTO FILHO, 2004).

Diferença significativa nas taxas de concepção de vacas de corte com 60 a 90 dias de período pós-parto e submetidas à sincronização da ovulação para IATF com dispositivos intravaginais de P4 + BE associados ou não a 400UI de eCG foi encontrada por BARUSELLI et al. (2004a): 38,8% (101/260) e 51,9% (138/266), respectivamente, indicando que o eCG pode ser uma ferramenta útil em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em animais em anestro, aumentando a eficiência reprodutiva destes animais (PORTO FILHO, 2004).

Para de verificar o efeito do BE em associação ao protocolo eCG + CRESTAR<sup>®</sup> em vacas de corte, MOURA; MARQUES; BARUSELLI (2003) não verificaram diferença significativa nos índices de concepção ao associarem o protocolo CRESTAR<sup>®</sup> com 400UI de eCG (D9 = retirada do implante) + 1 mg de BE (D10). Os grupos foram divididos em CRESTAR<sup>®</sup> + eCG (G1) e CRESTAR<sup>®</sup> + eCG + BE (G2). As taxas de concepção foram de 51,2% (42/82) para o G1, e de 50,6% (38/75) para o G2. Em virtude dos resultados obtidos, os autores sugerem que a utilização de BE após a associação entre o protocolo CRESTAR<sup>®</sup> e o eCG é desnecessária, pois não tem sido verificadas diferenças nas taxas de concepção com o uso de ambos (PORTO FILHO, 2004).

CUTAIA et al. (2003) avaliaram o efeito do eCG no momento da remoção do dispositivo de P4 em vacas no pós-parto. Com base nos resultados desse estudo, os autores concluíram que a aplicação de uma dose de 400UI de eCG no dia 8 do tratamento aumentou significativamente a taxa de prenhez, em rebanhos com alta porcentagem de anestro ou em vacas com baixo escore corporal. Entretanto, a utilização do eCG sem a combinação de BE como indutor da ovulação resultou em baixa porcentagem de prenhez (CARVALHO, 2004).

Similarmente, BARUSELLI et al. (2003) avaliaram o efeito dos tratamentos com BE ou eCG + BE em vacas Nelores mantidas em pastagem. A taxa de prenhez foi mais alta ( $P < 0,05$ ) no grupo eCG do que no grupo BE, e o efeito positivo do eCG aumentou em relação direta com o grau de anestro. Em contraste, nos animais cíclicos, ou seja, apresentando CL funcional, não foi observado qualquer efeito aparente do tratamento com eCG. Assim, os resultados indicam que o tratamento com eCG pode aumentar a eficiência da IATF em animais com baixa porcentagem de ciclicidade, o que é frequentemente observado em fêmeas *Bos taurus indicus* em condições tropicais (CARVALHO, 2004).

CUTAIA et al. (2003) também avaliaram as respostas à utilização do CIDR<sup>®</sup> + 400UI de eCG em vacas que apresentavam corpo lúteo (G1), vacas que apresentavam folículos maiores que 8 mm de diâmetro (G2) e vacas que não apresentavam estruturas palpáveis (G3). Ao comparar as taxas de prenhez entre o grupo controle (que não recebeu eCG) e as fêmeas tratadas, os autores verificaram que, nos animais ciclando (com CL), o eCG não interferiu significativamente (52,7% e 59,6%), já naquelas que apresentavam somente folículos e naquelas que não tinham estruturas palpáveis, o eCG influenciou significativamente nas taxas de prenhez (31,3% e 50,9%, e 30,6% e 54,2%, respectivamente), indicando que o efeito do eCG pode ser benéfico em vacas em anestro, e pode se tornar mais expressivo conforme se aumenta o grau de anestro dos animais (PORTO FILHO, 2004).

De acordo com BARUSELLI et al. (2004a,b) a administração de eCG pode melhorar a eficácia dos protocolos de IATF, assim, o uso do eCG no momento da remoção do dispositivo intravaginal de P4 tem sido uma alternativa para aumentar as taxas de ovulação (BARUSELLI et al., 2004b) e as taxas de prenhez (DIAS et al., 2009) em novilhas *Bos taurus indicus*

submetidas à IATF. Dessa forma, SÁ FILHO et al. (2010b) observaram um aumento significativo nas taxas de ovulação em novilhas Nelores tratadas com 400UI de eCG (73,6% e 94,4%,  $P = 0,0006$ ) e BARUSELLI et al. (2004b) verificaram taxa de ovulação de 50% para aquelas que não receberam 400UI de eCG e de 76,2% para novilhas Nelores cíclicas que receberam esta gonadotrofina.

MARQUES et al. (2003) observaram taxa de ovulação de 60% sem eCG e de 76% com eCG em vacas de corte no período pós-parto. De acordo com os autores, o grupo de fêmeas que recebeu um indutor da ovulação, como BE (D9) + eCG (D8) associado ao CIDR<sup>®</sup>, apresentaram taxa de ovulação maior (80,8%) do que aquele no qual o BE não foi administrado. Tais efeitos também vêm sendo observados em vacas leiteiras no período pós-parto e em vacas em anestro. BARUSELLI et al. (2004c), ao avaliarem os efeitos do uso do eCG na dinâmica folicular de vacas Nelores em anestro e com diferentes escores de condição corporal, verificaram que o tratamento com eCG na retirada do implante auricular de progestágeno aumentou a taxa de ovulação (50,0% e 73,1%). Da mesma forma, SÁ FILHO et al. (2010a) observaram um aumento significativo nas taxas de ovulação em vacas Nelores lactantes tratadas com eCG (50,0% e 76,9%,  $P = 0,03$ ), corroborando os dados citados acima. Assim, o uso do eCG pode promover melhores taxas de ovulação, podendo ser utilizado com sucesso em programas de IATF em animais *Bos taurus indicus*, principalmente naqueles animais sujeitos a condições de anestro.

Ao compararem a associação (G1) ou não (G2) de 400UI de eCG (D-8) com CIDR<sup>®</sup> em novilhas de corte, BARUSELLI et al. (2004b) verificaram diferença significativa na taxa de ovulação (76% versus 50%,  $P < 0,05$ ). Entretanto, nenhum efeito foi observado no diâmetro do folículo ovulatório ( $10,9 \pm 0,3$  e  $11,2 \pm 0,3$ mm), no intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação ( $72,0 \pm 2,5$  e  $72,0 \pm 3,1$ h) e na área do CL ( $2,4 \pm 0,2$  e  $2,0 \pm 0,1$ mm<sup>2</sup>), indicando que o crescimento folicular atribuído ao eCG pode não ser o fator preponderante para a antecipação ou o atraso nas ovulações em protocolos de sincronização da ovulação para IATF em animais *Bos taurus indicus*, sugerindo que vacas que recebem eCG podem ser inseminadas no mesmo momento que vacas que não recebem esta gonadotrofina (BARUSELLI et al., 2008).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local e período do experimento

O experimento foi desenvolvido no Departamento de Reprodução e Avaliação Animal (DRAA) do Instituto de Zootecnia (IZ) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no Município de Seropédica (283,79 km<sup>2</sup>), estado do Rio de Janeiro, no período de 10 de janeiro a 11 de fevereiro de 2011.

Geograficamente, o município situa-se a 22°45'53''S, 43°41'56''W e 33m de altitude acima do nível do mar.

### 4.2 Animais

Foram utilizadas 16 vacas da raça Sindi (*Bos taurus indicus*), não lactantes, não gestantes e com escore corporal entre 3,0 e 4,0 na escala de 1 a 5 (WILDMAN *et al.*, 1982), registradas na ABCZ (Associação Brasileira de Criadores de Zebu) e com idade variando entre 3 e 17 anos.

### 4.3 Estabelecimento dos grupos de tratamento para sincronização da ovulação

Os animais foram primeiramente divididos em 3 grupos de faixa etária A, B e C, sendo o grupo A formado por vacas com menos de 7 anos; o grupo B formado por vacas entre 7 e 11 anos e o grupo C formado por vacas entre 12 a 17 anos. Em seguida, os animais foram distribuídos nos grupos dos tratamentos de sincronização da ovulação, para se evitar uma possível interferência da idade na resposta aos protocolos de sincronização da ovulação estabelecidos para este experimento, conforme Tabela 1.

**Tabela 1.** Distribuição dos animais nos tratamentos conforme a faixa etária.

Faixa etária	n	Grupo I (sem eCG)	Grupo II (400 UI eCG)
A (menos de 7 anos)	3	2	1
B (7 a 11 anos)	7	3	4
C (12 a 17 anos)	6	3	3
<b>Total</b>	<b>16</b>	<b>8</b>	<b>8</b>

#### 4.4 Manejo reprodutivo e nutricional

Todos os animais foram submetidos previamente a exame ginecológico por palpação retal para detecção da ciclicidade e anormalidades do trato reprodutivo 20 dias antes do início das avaliações ultrassonográficas. A partir do dia 31 de janeiro de 2011, data em que se começaram as avaliações ultrassonográficas dos ovários, as vacas foram mantidas confinadas no Departamento de Reprodução e Avaliação Animal do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde tinham acesso livre a piquetes de capim *Brachiaria decumbens*, e água *ad libitum*.

#### 4.5 Avaliação dos parâmetros reprodutivos durante os protocolos de sincronização da ovulação

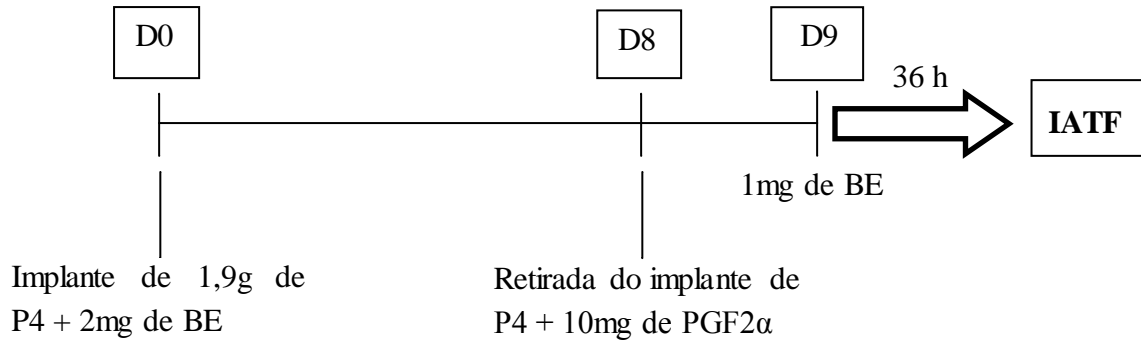
A metodologia utilizada para avaliar os parâmetros reprodutivos foi a metodologia proposta por PORTO FILHO (2004) para a caracterização da dinâmica folicular em fêmeas bubalinas, conforme se segue:

No experimento 1, 19 búfalas da raça Murrah lactantes entre 4,0 e 8,0 anos de idade receberam um DIV<sup>®</sup> associado a 2mg de benzoato de estradiol (BE) no D0; no D9 o DIV<sup>®</sup> foi removido, e procedeu-se a administração de 0,150mg de PGF2 $\alpha$  (grupo controle) e a aplicação de 500UI de eCG (grupo eCG); no D11, foi feita a administração de 1500UI de hCG em ambos os grupos, procedendo-se à IATF 16 horas após esta aplicação, sendo avaliados os seguintes parâmetros: diâmetro do folículo dominante (FD) nos dias 9, 10 e 11 em mm, diâmetro máximo FD em mm, diâmetro máximo do folículo ovulatório (FO) em mm, intervalo entre a retirada do implante de progestágeno (P4) e a ovulação em horas, taxa de ovulação em %, área do corpo lúteo (CL) em mm<sup>2</sup>, concentração de P4 em ng/mL e taxa de prenhez em %.

Todas as aplicações hormonais foram feitas na mesma hora do dia (às 07h00min), sendo as vacas Sindi em seguida submetidas às avaliações ultrassonográficas.

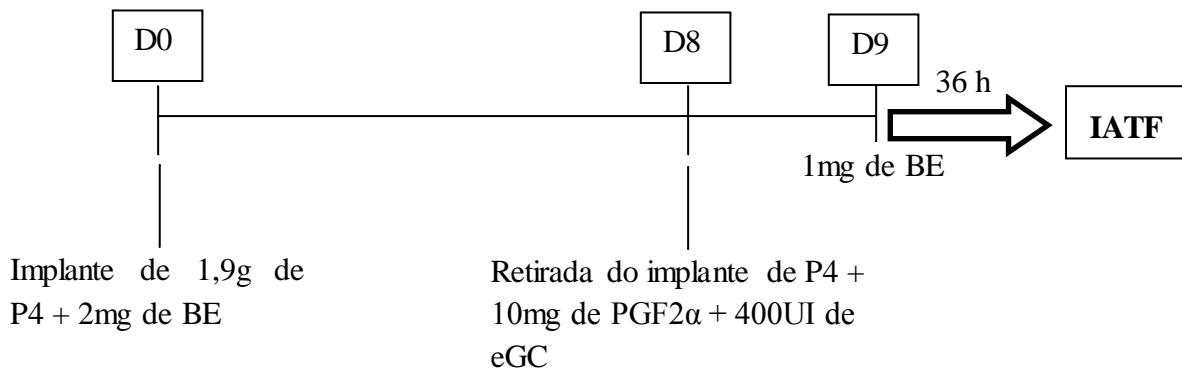
As vacas foram inicialmente sincronizadas utilizando-se duas aplicações (i.m) de 2mL de PGF2 $\alpha$  (Lutalise<sup>®</sup>) com intervalo de 14 dias para facilitar a avaliação dos parâmetros reprodutivos. Sete dias após a segunda aplicação de PGF2 $\alpha$ , as vacas foram divididas em dois grupos sendo submetidas aos tratamentos de sincronização da ovulação conforme Figuras 2 e 3.

Grupo I (BE, n = 8): os animais receberam no dia 0, um implante intravaginal de silicone impregnado com 1,9g de progestágeno (CIDR<sup>®</sup>) e uma aplicação (i.m) de 2mg de benzoato de estradiol (BE, Estrogin<sup>®</sup>). No dia 8, o implante vaginal foi removido sendo neste momento aplicados (i.m) 10mg de Dinoprost<sup>®</sup> (PGF2 $\alpha$ ) e, 24 horas após, aplicado 1mg (i.m) de benzoato de estradiol, sendo realizada a IATF 36 horas depois, conforme Figura 1.



**Figura 1.** Esquema de sincronização da ovulação sem a utilização de eCG.

Grupo II (BE + eCG, n = 8): os animais receberam no dia 0, um implante intravaginal de silicone impregnado com 1,9g de progestágeno (CIDR<sup>®</sup>) e uma aplicação (i.m) de 2mg de benzoato de estradiol (BE, Estrogin<sup>®</sup>). No dia 8, o implante vaginal foi removido, sendo neste momento aplicados (i.m) 10mg de Dinoprost<sup>®</sup> (PGF2 $\alpha$ ) e 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG, Novormon<sup>®</sup>), e 24 horas após, foi aplicado 1mg (i.m) de benzoato de estradiol, sendo realizada a IATF 36 horas depois, conforme Figura 2.



**Figura 2.** Esquema de sincronização da ovulação empregando 400 UI de eCG.

## 4.6 Exames ultrassonográficos

Os exames ultrassonográficos, realizados pela técnica transretal com auxílio de um transdutor linear de 7,5MHz (CHISON<sup>®</sup> D600 VET), tiveram início no D0 do protocolo de sincronização, isto é, no momento da inserção dos dispositivos intravaginais de progestágeno, e foram repetidos em intervalos de 24 horas. Estes exames foram realizados pelo mesmo operador e eram iniciados na mesma hora do dia (às 07h00min e após as aplicações hormonais).

Em cada avaliação, o maior folículo de cada dia com diâmetro superior a 4 mm foi mensurado por meio de dispositivos do próprio aparelho (a imagem adequada do ovário era congelada no monitor) para acompanhamento do crescimento folicular e determinação do diâmetro máximo do folículo dominante (FD). Após a segunda aplicação de BE (D9), os animais foram avaliados por ultrassonografia duas vezes por dia (intervalos de 12 horas) até que a ovulação fosse detectada, sendo então submetidos à IATF 36 horas depois.

Os parâmetros reprodutivos avaliados foram: emergência da onda (dias), sendo que o momento da emergência da onda de crescimento folicular foi determinado pelo aparecimento sincrônico de um grupo de folículos antrais  $\geq 4$  mm de diâmetro; intervalo entre a emergência da onda e ovulação (dias); intervalo entre a emergência da onda e retirada do implante de P4 (dias); intervalo entre a retirada do implante de P4 e ovulação (horas); diâmetro do FD na retirada do implante de P4 (mm); diâmetro máximo do FD (mm); taxa de crescimento do FD (mm/dia), sendo que a taxa de crescimento do folículo dominante foi determinada dividindo a variação observada no diâmetro folicular pelo número de dias de observação; taxa de ovulação (%), sendo que o desaparecimento dos folículos  $\geq 10,0$ mm anteriormente identificados foi considerado como indicativo de ovulação, e o horário da ovulação foi estabelecido como a hora intermediária entre o penúltimo e o último exame, no qual foi diagnosticada a ovulação; e taxa de prenhez (%), sendo que esta foi verificada 55 após a realização da IATF, com o auxílio de ultrassonografia transretal (CHISON<sup>®</sup> D600 VET).

## 4.7 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o DIC (Delineamento Inteiramente Casualizado), com dois tratamentos (grupos de sincronização da ovulação I e II). Ao se dividir os grupos, buscou-se homogeneidade de acordo com a faixa etária e a condição corporal.

Os dados foram analisados com o auxílio do programa Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – SAEG (UFV, 2007). Para a descrição dos resultados, foram empregados os desvios padrões e as médias (média  $\pm$  desvio padrão) dos parâmetros reprodutivos analisados no estudo. As diferenças entre os grupos foram testadas pelo modelo geral linear de variância (ANOVA). O nível de significância (p) utilizado para rejeitar H<sub>0</sub> (hipótese de nulidade) foi de 5%, isto é, para um nível de significância menor que 0,05, considerou-se que ocorreram diferenças significativas entre as variáveis classificatórias (tratamentos) para uma determinada variável resposta (parâmetros reprodutivos analisados).

As diferenças entre as médias dos tratamentos (protocolos de sincronização da ovulação I e II) foram determinadas pelo teste de Tukey, a um nível de significância de 5%.

Na análise de variância foram analisados os efeitos das variáveis classificatórias tratamento I (grupo I: sem eCG) e tratamento II (grupo II: com 400UI de eCG).

As variáveis resposta analisadas no experimento foram: emergência da onda (dias); intervalo entre a emergência da onda e ovulação (dias); intervalo entre a emergência da onda e retirada do implante de P4 (dias); intervalo entre a retirada do implante de P4 e ovulação (horas); diâmetro do FD na retirada do implante de P4 (mm); diâmetro máximo do FD (mm); taxa de crescimento do FD (mm/dia); taxa de ovulação (%); e taxa de prenhez (%).

O teste do  $\chi^2$  (Qui-Quadrado), com nível de significância de 5%, foi utilizado para comparar as diferenças que implicam em proporções, como as encontradas nas taxas de ovulação e de prenhez.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análise dos dados, observou-se que não houve diferença estatística ( $P > 0,05$ ) para os grupos I (sem eCG) e II (400UI eCG) em relação à emergência da onda folicular,  $4,5 \pm 1,4$  e  $3,8 \pm 0,3$  dias; ao intervalo entre a emergência da onda e a ovulação,  $5,8 \pm 1,4$  e  $7,1 \pm 0,3$  dias; ao intervalo entre a emergência da onda e a retirada do implante de P4,  $3,5 \pm 1,4$  e  $4,1 \pm 0,3$  dias; ao intervalo entre a retirada do implante de P4 e a ovulação,  $74,0 \pm 11,8$  e  $82,5 \pm 4,2$  horas; ao diâmetro do fólculo dominante (FD) na retirada do implante,  $7,5 \pm 2,5$  e  $6,6 \pm 1,5$  mm; ao diâmetro máximo do FD,  $10,47 \pm 3,7$  e  $8,85 \pm 1,2$  mm; à taxa de crescimento do FD,  $0,90 \pm 0,7$  e  $0,83 \pm 0,6$  e à taxa de ovulação, 75% (6/8) e 100% (8/8), respectivamente. Com relação à taxa de prenhez, foi observada diferença estatística ( $P < 0,05$ ) entre os grupos I e II, sendo 0% (0/8) e 50% (4/8), respectivamente, havendo uma maior taxa no grupo tratado com eCG. Os resultados estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2.** Parâmetros reprodutivos de vacas Sindi tratadas com dois protocolos de sincronização da ovulação.

Parâmetros Reprodutivos	Grupo I <sup>a</sup>	Grupo II <sup>b</sup>
Emergência da onda (dias) Média $\pm$ DP	$4,5 \pm 1,4$	$3,8 \pm 0,3$
Intervalo entre emergência da onda e ovulação (dias) Média $\pm$ DP	$5,8 \pm 1,4$	$7,1 \pm 0,3$
Intervalo entre emergência da onda e retirada do implante (dias) Média $\pm$ DP	$3,5 \pm 1,4$	$4,1 \pm 0,3$
Intervalo entre retirada do implante e ovulação (horas) Média $\pm$ DP	$74,0 \pm 11,8$	$82,5 \pm 4,2$
Diâmetro FD na retirada do implante P4 (mm) Média $\pm$ DP	$7,5 \pm 2,5$	$6,6 \pm 1,5$
Diametro máximo FD (mm) Média $\pm$ DP	$10,47 \pm 3,7$	$8,85 \pm 1,2$
Taxa de crescimento FD (mm/dia) Média $\pm$ DP	$0,90 \pm 0,7$	$0,83 \pm 0,6$
Taxa de ovulação (%)	75 (6/8)	100 (8/8)
Taxa de prenhez	0 (0/8)*	50 (4/8)*

<sup>a</sup> Os animais receberam no dia 0 um implante intravaginal de silicone impregnado com 1,9g de progestágeno e uma aplicação (i.m) de 2mg de BE, no dia 8 o implante vaginal foi removido sendo neste momento aplicados (i.m) 10mg de Dinoprost e, 24 horas após a remoção do implante, foi aplicado 1mg (i.m) de BE.

<sup>b</sup> Os animais receberam no dia 0 um implante intravaginal de silicone impregnado com 1,9g de progestágeno e uma aplicação (i.m) de 2mg de BE, no dia 8 o implante vaginal foi removido sendo neste momento aplicados (i.m) 10mg de Dinoprost e 400UI de eCG e, 24 horas após a remoção do implante, foi aplicado 1mg (i.m) de BE.

\*  $P < 0,05$



O protocolo de sincronização da ovulação baseado no emprego de progestágeno e estradiol utilizado no presente estudo tem sido bastante discutido na literatura (PORTO FILHO, 2004). Os efeitos atribuídos a tais hormônios, tais como a atresia dos folículos FSH e LH dependentes e a ovulação em momento pré-determinado, resultando na emergência da uma nova onda de crescimento folicular e na sincronização da ovulação, são relatados por vários pesquisadores (BÓ et al., 1994; BÓ et al., 1995; DRIANCOURT, 2000; ROCHA, 2000; LANE et al., 2001).

Com relação à emergência da onda folicular, não foi observada diferença estatística entre os grupos. Os resultados do presente trabalho, onde se utilizou 2mg de BE no início do tratamento, estão de acordo com os achados de BRIDGES et al. (1999), que, ao avaliarem 46 vacas de corte lactantes com 28 dias de período pós-parto, obtiveram com a administração de 2mg de BE no momento da inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona mantido por 7 dias, a emergência de uma nova onda folicular em  $3,9 \pm 0,6$  dias; e aos achados de BURKE et al. (2001), com a administração de 1mg de BE i.m. ( $3,1 \pm 0,1$  dias) em 31 novilhas de corte pré-púberes. Da mesma forma, CARVALHO (2004) obteve com a aplicação de 2mg de BE no dia da colocação de um implante de progestágeno, a emergência de uma nova onda folicular em  $3,3 \pm 0,3$  dias em 12 novilhas Nelores cíclicas com idade entre 20 e 24 meses. Em um estudo realizado por BÓ et al. (1995), 25 novilhas com idade entre 18 e 22 meses que receberam 5mg de E-17 $\beta$  um dia antes da colocação de um implante auricular de progestágeno demonstraram a emergência de uma nova onda de crescimento folicular em  $4,3 \pm 0,2$  dias. Assim, os resultados do presente estudo corroboram os dados citados na literatura, onde o tratamento com progestágenos e estradiol pode promover a emergência sincronizada de uma nova onda de crescimento folicular 4 dias após o início do tratamento, independente do estágio de desenvolvimento do folículo dominante ao tempo do tratamento (BÓ et al., 1995).

As elevações nas concentrações sanguíneas de FSH são as responsáveis pelo recrutamento folicular, sendo que o aumento nas concentrações de estrógenos, após o recrutamento, exerce um efeito de retroalimentação negativa na secreção de FSH (CARVALHO, 2004). EVANS et al. (1997) demonstraram que a secreção de andrógenos está inversamente relacionada com as concentrações de FSH circulante, sugerindo que os andrógenos, bem como os estrógenos, regulam o padrão de flutuação da secreção do FSH e a emergência das ondas de crescimento folicular. Segundo GIBBONS; WILTBANK; GINTHER (1999) o estrógeno provavelmente desempenha um papel importante na supressão do FSH. Na presença de elevados níveis de P<sub>4</sub> o estrógeno também bloqueia de forma dose-dependente a liberação de LH, e pode influenciar a emergência da subsequente onda de crescimento folicular (BÓ et al., 1994; CARVALHO, 2004).

As variações observadas no dia da emergência da onda de crescimento folicular estão associadas à dose e às formas de preparação de estrógeno utilizadas, tais como BE, VE e ECP, que por sua vez, produzem diferentes efeitos sobre as concentrações de gonadotrofinas (MAPLETOFT et al., 2003; CARVALHO, 2004). Considerando esta variação nas respostas aos tratamentos com diferentes doses e preparações comerciais de estrógenos, a estreita sincronia entre o dia de emergência da nova onda de crescimento folicular nos dois grupos observada no presente estudo sugere que a dose de 2mg de BE i.m., utilizada no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P<sub>4</sub>, tenha sido adequada para manter elevadas concentrações de estrógeno na circulação, e com isso promover a emergência sincronizada de um grupo de folículos em um intervalo de 3 a 6 dias após a sua aplicação.

Com relação ao intervalo entre a emergência da onda e a ovulação e ao intervalo entre a emergência da onda e a retirada do implante de P<sub>4</sub>, não foi observada diferença estatística

entre os grupos para ambos os parâmetros. Tais achados estão de acordo com os achados de MELO (2009) que, ao avaliar a dinâmica folicular de 9 vacas de corte da raça mestiça Braford (*Bos Taurus x Bos Indicus*) múltiparas, não lactantes, cíclicas e com ECC  $\geq 3,0$  na escala de 1,0 a 5,0 tratadas com 2mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1,0g de progestágeno (P<sub>4</sub>), obteve um intervalo entre a emergência da onda e a ovulação de  $7,3 \pm 0,7$  dias. Quanto à sincronia na emergência da onda e nos intervalos entre a emergência da onda e a ovulação e a emergência da onda e a retirada do implante de P<sub>4</sub>, observou-se uma menor variação no grupo II, resultando em uma melhor sincronia na emergência da onda nos animais tratados com eCG, apesar de não ter havido diferença estatística entre os grupos.

Com relação ao intervalo entre a retirada do implante de P<sub>4</sub> e a ovulação, não foi observada diferença estatística entre os grupos. Tais achados estão de acordo com aqueles relatados por SÁ FILHO et al. (2010a), ao utilizarem 5mg de VE + 3mg de norgestomet i. m. no D0 (dia zero), juntamente com um implante auricular de 3mg de norgestomet (CRESTAR<sup>®</sup>) por 9 dias, e 400UI de eCG no dia 9 em 50 vacas Nelores em anestro com 135 dias de período pós-parto ( $70,5 \pm 2,7h$  e  $72,0 \pm 3,1h$ , P=0,63), indicando que o tratamento com eCG na retirada dos dispositivos intravaginais de progestágeno não influencia no intervalo entre a retirada dos dispositivos e a ovulação.

Da mesma forma, MARQUES et al. (2003); BARUSELLI et al. (2004c); SÁ FILHO et al. (2004); DUFFY et al. (2004); BERGAMASHI (2004); SOUZA et al. (2006), e MARAÑA et al. (2006) verificaram que o uso do eCG não influenciou o intervalo entre a retirada do CIDR<sup>®</sup> e a ovulação em fêmeas *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*. Assim, os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com os trabalhos constantes na literatura, que indicam que os tratamentos com progestágenos, estradiol e eCG podem promover uma ovulação sincronizada em um intervalo de 72 a 84 horas entre a retirada do implante de progestágeno e a ovulação nos animais tratados. A grande variação observada nos resultados da média e desvio padrão da média (média  $\pm$  DP) com relação ao intervalo entre a retirada do implante de P<sub>4</sub> e a ovulação entre os grupos I e II pode ser explicada pelo fato de 2 animais do grupo I não terem apresentado ovulação durante a realização do experimento.

Quanto à sincronia no intervalo entre a retirada do implante de P<sub>4</sub> e a ovulação, observou-se uma menor variação no grupo II, e, portanto, uma melhor sincronia nas ovulações, apesar de não haver diferença estatística entre os grupos, indicando que o eCG pode ter promovido uma melhora na ocorrência das ovulações. Da mesma forma, em um estudo feito por CAVALIERI et al. (1997) com 24 vacas da raça Brahman (*Bos taurus indicus*) não lactantes e com idade entre 3 e 8 anos, observou-se uma melhoria na sincronia da ovulação em vacas tratadas com eCG no momento da remoção do implante auricular de progestágeno (CRESTAR<sup>®</sup>) comparadas com aquelas tratadas somente com CRESTAR<sup>®</sup> (eCG = 61 a 83h e sem eCG = 66 a 114h, P<0,001).

Com relação ao diâmetro do folículo dominante (FD) no dia da remoção do implante de P<sub>4</sub> (D8), não foi observada diferença estatística entre os grupos, fato este também observado por outros autores, tais como SÁ FILHO et al. (2010a,b) e SALES et al. (2011), ao estudarem a dinâmica folicular de fêmeas bovinas da raça Nelore. SÁ FILHO et al. (2010a), ao avaliarem 50 vacas Nelores em anestro com 135 dias de período pós-parto sincronizadas com 5mg de VE + 3mg de norgestomet i. m. no dia 0 (D0), juntamente com um implante auricular de 3mg de norgestomet (CRESTAR<sup>®</sup>) por 9 dias, e 400UI de eCG no dia 9, encontraram valores para o FD de  $8,2 \pm 0,9mm$  e  $8,3 \pm 1,0mm$ , P=0,94. Em outro estudo, SÁ FILHO et al. (2010b), ao avaliarem 180 novilhas Nelores cíclicas e acíclicas (sem CL) e com idade entre 24 e 32 meses sincronizadas com 2mg de BE + 3mg de norgestomet i. m. no dia 0 (dia zero), juntamente com um implante auricular de 3mg de norgestomet (CRESTAR<sup>®</sup>) por 8

dias, e 400UI de eCG no dia 8, obtiveram valores de  $8,2 \pm 0,2\text{mm}$  e  $8,6 \pm 0,2\text{mm}$ ,  $P=0,22$ . Da mesma forma, SALES et al. (2011), ao avaliarem 465 vacas Nelores em anestro e lactantes com 30 a 60 dias de período pós-parto sincronizadas com um dispositivo intravaginal de progestágeno (Sincrogest<sup>®</sup>) + 2mg de BE i.m. no dia 0 (D0) por 8 dias, e 1mg de ECP + 300UI de eCG no dia 8, obtiveram valores de  $11,1 \pm 0,2\text{mm}$  e  $11,0 \pm 0,3\text{mm}$ ,  $P=0,94$ . Esses resultados demonstram que o tratamento com eCG pode não influenciar o diâmetro do FD na retirada dos implantes de progestágeno, independente da categoria animal e do fato de estes estarem ciclando (com CL) ou não (sem CL) durante o tratamento.

Com relação ao diâmetro máximo do folículo dominante (FD) e à taxa de crescimento do FD, não foi observada diferença estatística entre os grupos. Isto pode estar relacionado ao fato de as vacas Sindi estarem com bom escore de condição corporal (ECC) durante a realização do experimento, e estarem ciclando normalmente ao início do tratamento, pois o efeito do eCG em estimular o crescimento folicular somente torna-se mais evidente conforme se aumenta o grau de anestro e se diminui o ECC ( $\leq 2,5$  na escala de 1,0 a 5,0). Tais resultados também estão de acordo com os resultados de VENERANDA et al. (2006), que, trabalhando com vacas Holandesas tratadas com 400UI de eCG, não observaram diferenças no diâmetro máximo do folículo dominante entre os grupos, indicando que o metabolismo de vacas de alta produção de leite pode interferir nas respostas à utilização desta gonadotrofina, fazendo com que a mesma não interfira nos resultados da dinâmica folicular ovariana apresentada por estes animais (SOUZA et al., 2009).

Com relação à taxa de ovulação, não foi observada diferença estatística entre os grupos, sendo apenas observado um aumento numérico do grupo que recebeu eCG (100%) com relação àquele que não recebeu esta gonadotrofina (75%), fato este que também pode estar relacionado à boa situação reprodutiva fisiológica e nutricional das vacas Sindi. SOUZA et al., (2009), ao avaliarem 96 vacas Holandesas de média a alta produção de leite sincronizadas com CIDR<sup>®</sup> por 8 dias e 400UI de eCG + 1mg de ECP no dia 8, também não encontraram diferença significativa na taxa de ovulação entre os grupos (84% e 87,5%,  $P=0,61$ ). Neste trabalho de SOUZA et al., (2009), o nível de produção de leite também não afetou a concentração de progesterona e a taxa de prenhez, não havendo também interação entre o eCG e o nível de produção de leite. No entanto, neste mesmo trabalho, verificou-se uma interação positiva entre o eCG e o ECC, de modo que animais que tinham um baixo ECC ( $\leq 2,75$  na escala de 1,0 a 5,0) respondiam melhor à utilização do eCG, demonstrando que esta gonadotrofina também pode ser usada em protocolos para IATF em vacas de produção de leite, melhorando a eficiência reprodutiva e produtiva destes animais.

Com relação à taxa de prenhez, foi observada diferença estatística entre os grupos, sendo significativamente maior no grupo tratado com eCG (0 e 50%,  $P<0,05$ ). De fato, o efeito positivo do tratamento com eCG nas taxas de prenhez tem sido relatados em diversos estudos, sendo que esta gonadotrofina pode promover um aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona após a realização da IATF (SÁ FILHO et al., 2010a), verificando-se uma positiva correlação entre as concentrações séricas de  $P_4$  e as taxas de prenhez em bovinos (BINELLI et al., 2001; SÁ FILHO et al., 2010b),

Dessa forma, diversos autores têm observado um aumento nas taxas de prenhez com o uso do eCG, tal como foi observado no presente trabalho. BÓ et al. (2001) obtiveram taxas de prenhez de 71,4% em vacas que receberam o eCG, e de 46,6% naquelas que não o receberam. CUTAIA et al. (2003) verificaram diferença significativa com a utilização do eCG na taxa de prenhez de vacas que apresentavam somente folículos no início do tratamento (31,3% e 50,9%), e de vacas que se encontravam em anestro (30,6% e 54,2%). SÁ FILHO et al. (2010a,b) observaram um aumento significativo nas taxas de prenhez em vacas Nelores

lactantes e em anestro (25% e 46,2%,  $P=0,07$ ), e em novilhas Nelores cíclicas e acíclicas (36,8% e 50,0%,  $P=0,04$ ) tratadas com eCG. Da mesma forma, MARQUES; REIS; BARUSELLI, (2004) também obtiveram um aumento na taxa de prenhez de novilhas Nelores cíclicas tratadas com eCG (15,7% e 34,9%), indicando que o eCG pode ser utilizado para aumentar a eficiência reprodutiva em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, ao estimular a atividade folicular e a produção hormonal, tais como os estrógenos e o LH, através da ativação de cascatas enzimáticas que resultam na síntese de estrógenos nestes animais.

Assim, os resultados referentes à taxa de prenhez do presente estudo, em concordância com os resultados observados na literatura, sugerem que o tratamento com eCG na retirada do dispositivo de progestágeno pode ser utilizado para se promover uma melhora nas taxas de prenhez. No entanto, a taxa de prenhez final no presente estudo foi baixa (25%), sendo que este fato pode estar relacionado com a idade elevada das vacas (média de 10 anos), com o longo período em que elas ficaram vazias (3 anos) por estarem sendo utilizadas como doadoras de embriões em programas para TETF, e também com o momento da IATF de 36 horas após a aplicação do indutor da ovulação no dia 9 (D9).

No entanto, os efeitos do eCG nas taxas de prenhez após IATF em bovinos tem sido inconsistentes (SÁ FILHO et al., 2010a). O efeito positivo do eCG tem sido mais evidente em vacas que se encontram em anestro ou com baixo escore de condição corporal (ECC) (CUTAIA et al., 2003; SOUZA et al.; 2009), não apenas sobre a taxa de prenhez, mas também sobre os demais parâmetros reprodutivos analisados. Em um estudo com 1984 animais, BARUSELLI et al. (2004c) avaliaram a interação entre o ECC e o eCG na taxa de prenhez. Neste estudo, as taxas de prenhez somente foram melhoradas pelo eCG em vacas com baixo ECC ( $\leq 2,5$ ; sem eCG = 40,7% e com eCG = 55,4%;  $P>0,05$ ). Similarmente, SOUZA et al. (2009) somente detectaram melhorias na fertilidade em vacas leiteiras de alta produção quando o eCG foi administrado àquelas vacas com baixo ECC ( $< 2,75$  na escala de 1,0 a 5,0). Adicionalmente, outros experimentos têm relatado o efeito do eCG nas taxas de prenhez somente em animais acíclicos (ausência de um CL no começo do protocolo de sincronização da ovulação) (BARUSELLI et al., 2003), ao se estimular a atividade folicular nestes animais.

Consequentemente, o uso do eCG em protocolos para IATF pode ser mais efetivo em rebanhos com uma alta proporção de vacas em anestro, vacas com baixo ECC, ou ambos (SÁ FILHO et al., 2010a). Dessa forma, apesar de ter havido um aumento na taxa de prenhez com o uso do eCG no presente trabalho, o tratamento com esta gonadotrofina não se mostrou eficiente em melhorar os demais parâmetros reprodutivos analisados em vacas Sindi submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação para IATF, sendo que isto pode ter ocorrido devido ao fato das vacas Sindi estarem com bom ECC ( $\geq 3,5$ ) durante a realização do experimento, e também pelo fato de todas as vacas estarem ciclando normalmente (presença de um CL funcional no início do tratamento). No entanto, o número de animais utilizado foi baixo ( $n=16$ ), o que pode ter interferido na obtenção dos resultados.

Assim, são necessários mais estudos referentes à fisiologia reprodutiva em fêmeas bovinas da raça Sindi com um número maior de animais, a fim que se possam compreender melhor os fatores que influenciam na fertilidade desta raça quando submetida a protocolos para IATF, e, desta forma, aperfeiçoar os indicadores de eficiência reprodutiva nestes animais.

## 6 CONCLUSÕES

Nas condições de realização do presente trabalho, é possível concluir que:

A eficiência dos protocolos de IATF em animais da raça Sindi pode estar na dependência do momento da IATF e do tempo de ovulação, sendo que o tempo de 36 horas após a aplicação do indutor da ovulação para a realização da mesma não foi efetivo em promover satisfatórias taxas de prenhez;

A administração de 2mg de benzoato de estradiol associado ao dispositivo de progesterona no início do tratamento provocou a atresia folicular e a emergência sincronizada de uma nova onda de crescimento folicular em todas as vacas da raça Sindi submetidas ao protocolo de IATF;

O efeito do eCG em fêmeas bovinas da raça Sindi sincronizadas para IATF não se mostrou eficiente em melhorar os parâmetros reprodutivos analisados. No entanto, foi verificada uma melhora na taxa de prenhez com o uso desta gonadotrofina, indicando que o eCG pode ser uma ferramenta útil em protocolos de IATF nesta raça.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 95, p. 627-40, 1992a.
- ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; KASTELIC, J. P.; KO, J. C. H.; GINTHER, O. J. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 94, p. 177-88, 1992b.
- ADAMS, G. P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization & superstimulation. **Theriogenology**, v. 41, p. 19-24, 1994.
- ADAMS, G. P.; JAISWAL, R. Dinâmica folicular em bovino: Visão geral da história e atualização. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36 (Supl.2), p. 377-396, 2008.
- ADAMS, G. P.; JAISWAL, R.; SINGH, J.; MALHI, P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, v. 69, p. 72-80, 2008.
- AERTS, J. M. J.; BOLS, P. E. J. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 45, p. 180-187, 2010.
- AIELLO, S. E. **Manual Merck de Veterinária**. Sistema Reprodutivo - introdução. 8 ed. São Paulo: Roca, 2001. 1861p.
- ALBERIO, R. H.; BUTLER, H. Sincronización de los celos en hembras receptoras. In: PALMA, G. A. Biotecnología de la Reproducción, **Reprobiotec**, Argentina, cap.5, p. 61-77, 2001.
- AUSTIN, J. E.; MIHM, M.; RYAN, M. P.; WILLIAMS, H. D.; ROCHE, J. F. 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, 1999.
- BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reprodução em bovinos**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2006. 232p.
- BAO, B.; GARVERICK, H. A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1903-1921, 1998.
- BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PAPA, F. O.; ROCHA, G. Follicular growth in Nellore cows (*Bos indicus*) after PGF2 administration. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 216, 1993. Supplement 1.

BARROS, C. M.; ERENO, R. L. Avanços em tratamentos hormonais para a inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p. 23-34, 2004.

BARUSELLI, P. S. **Dinâmica folicular durante o ciclo estral e resposta superovulatória em fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*)**. 1997. 96f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1997.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R.; BÓ, G. A. Ovarian superovulation in embryo recipients to improve the number of corpus luteum, progesterone concentration and pregnancy rates. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 28, p. 218 [abstract], 2000.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte: In: **I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de estros em bovinos**, Porto Alegre – RS. Anais, p. 41-60, 2002.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; REIS, E. L.; BÓ, G. A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, p. 214, 2003 (Abstract).

BARUSELLI, P. S. **Manual Prático de Inseminação Artificial em Tempo Fixo**. Biogenesis Brasil, 56f, 2004.

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

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T.; CARVALHO, J. B. P. eCG increase ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: **XVI International Congress on Animal Reproduction**, 2008, Budapeste, Hungria, vol. 1, p. 117, 2004b.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M.O.; RODRIGUES, C.A.; NASSER, L. F.T.; SILVA, R.C P; REIS, E.L.; SÁ FILHO, M.F. Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelores com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise retrospectiva). In: **XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões**, 2004, Barra Bonita. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 32. p. 228, 2004c.

BARUSELLI, P. S.; GIMENES, L. U.; SALES, J. N. S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n. 2, p. 205- 211, 2007.

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: **III Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina-PR. Anais, p. 146-167, 2008.

BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; KOT, K.; WILTBANK, M. C. W.; GINTHER, O. J. Follicular fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 432-441, 2001.

BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; KOT, K.; GINTHER, O. J. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. **Biology of Reproduction**, v. 66, p. 120126, 2002.

BEG, M. A.; GINTHER, O. J. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction**, v. 132, p. 365-377, 2006.

BERGAMASCHI, M. A. C. M. **Hormonal Strategies to Improve the Luteal Function in Nelore Cows After Estrus Synchronization**. PhD thesis, UNESP, 2004.

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

BERGFELT, D. R.; LIGHTFOOT, K. C.; ADAMS, G. P. Ovarian synchronization following ultrasound-guided transvaginal follicle ablation in heifers. **Theriogenology**, v. 42, p. 895-907, 1994.

BERTAN, C. M.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E. H.; TRALDI, A. S. Mecanismos endócrinos e moleculares envolvidos na formação do corpo lúteo e na luteólise - revisão de literatura. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 6. Disponível em <[http://www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1413-95962006000600017&lng=pt&nrm=iso](http://www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-95962006000600017&lng=pt&nrm=iso)>. Acesso em 05 set. 2011.

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

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

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

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of progesterone plus estradiol-17 $\beta$  treatment on superovulatory response in beef cattle. **Theriogenology**, v. 45, p. 897-910, 1996.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; BROGLIATTI, G. M.; MEDINA, M.; TRIBULO, R.; TRIBULO, H. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestagenos y estradiol. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal**, 4., Córdoba, p. 117-136, 2001.



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

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

BÓ, G. A.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L. Manipulação hormonal do ciclo estral em doadoras e receptoras de embrião bovino. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 1-22, 2004.

BONI, R.; ROELOFSEN, V. M.; PIETERSE, M.; KOGUT, J.; KRUIPTH, A. M. Follicular dynamics repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. **Theriogenology**, v. 48, p. 277-89, 1997.

BOSSIS, I.; WETTEMANN, R. P.; WELTY, S. D.; VIZCARRA, J.; SPICER, L. J. Nutritionally induced anovulation in beef Heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. **Biology of Reproduction**, v. 62, p. 1436-1444, 2000.

BRIDGES, P. J.; LEWIS, P. E.; WAGNER, W. R.; INSKEEP, E. K. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 52, p. 573-583, 1999.

BROADBENT, P. J.; TREGASKES, D. L.; DOLMAL, D. F.; FRANKLIN, D. F.; JONES, R. L. Synchronization of estrus in embryo transfer recipients after using a combination of PRID or CIDR-B plus PGF2 $\alpha$ . **Theriogenology**, v. 39, p. 1055-1065, 1993.

BRUKE, C. R. MIHM, M.; MACMILLAN, K. L.; ROCHE, J. F. Some effects of premature concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrus cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 35, p. 27-39, 1994.

BUNGARTZ, L.; NIEMANN, H. Assessment of the presence of a dominant follicle and selection of dairy cows suitable for superovulatory by a single ultrasound examination. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, p. 583-91, 1994.

BURATINI Jr., J. Foliculogênese em bovinos. In: **II Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina - PR. Anais, p. 55- 62, 2006.

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

CARVALHO, J. B. P. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR<sup>®</sup>) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. 2004. 124f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

CARVALHO, B. P. **Superovulação de vacas Red Sindi (*Bos taurus indicus*) com três diferentes doses de FSH.** 2009. 57p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2009.

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

CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; PARKER, K. I.; WRIGHT, P. J.; MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and concentrations in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v. 76, p. 177-193, 2003.

CUNNINGAM, J. G. Ciclos Reprodutivos. In: AUTUMN, P.; GEORGE, H. **Tratado de Fisiologia Veterinária.** 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1999. Cap. 36, p. 368-376.

CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D.; BÓ, G.A. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Theriogenology**, v. 59, p. 216, 2003 (IETS).

DAHLEN, C. R.; LAMB, G. C.; ZEHNDER, C. M.; MILLER, R. A.; DICONSTANZO, A. Fixed-time insemination in peripuberal, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF $2\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**, v. 59, p. 1827-1837, 2003.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone concentrations, exogenous eCG and timing of prostaglandin F $2\alpha$  treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology** 72, 378-385, 2009.

DRIANCOURT, M. A. Follicular dynamics in sheep and cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 55-79, 1991.

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v. 54, p. 1211-1239, 2000.

DUFFY, P.; CROWE, M. A.; AUSTIN, E. J.; MIHM, M.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. 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.

EPPIG, J. J. Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. **Reproduction**, v. 122, p. 829-838, 2001.

EVANS, A. C. O.; ADAMS, G. P.; RAWLINGS, N. C. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, p. 187-194, 1994.

- EVANS, A. C. O.; KOMAR, C. M.; WANDJI, S. A.; FORTUNE, F. E. Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitude are associated with recruitment and growth of ovarian follicles during the luteal phase of the bovine estrus cycle. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 349-401, 1997.
- FAIR, T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 203-216, 2003.
- FERRAZ, H. T.; VIU, M. A. O.; LOPES, D. T.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; GAMBARINI, M. R. Sincronização da ovulação para realização da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **PUBVET: Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 2, n. 12, 2008.
- FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in Nellore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.
- FILION, F.; BOUCHARD, N.; GOFF, A. K.; LUSSIER, J. G.; SIROIS, J. Molecular cloning and induction of bovine prostaglandin E synthase by gonadotropins in ovarian follicles prior to ovulation in vivo. **Journal of Biology Chemistry**, v. 276, p. 34323-34330, 2001.
- FORTUNE, J. E.; SIROIS, J.; TURZILLO, A. M.; LAVOIR, M. Follicle selection in domestic ruminants. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 43, p. 187-98, 1991. Supplement.
- FORTUNE, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction**, v. 50, p. 225-32, 1994.
- FORTUNE, J. E.; KITO, S.; WANDJI, S. A.; SRSEN, V. Activation of bovine and baboon primordial follicles in vitro. **Theriogenology**, v. 49, p. 441-449, 1998.
- FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; EVANS, A. C. O.; TURZILLO, A. M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 648-654, 2001.
- FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p.109-126, 2004
- FRICKE, P. M.; WILTBANK, M. C. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, p.1133-1143, 1999.
- GAMBINI, A. L. G.; MOREIRA, M. B. P.; CASTILHO, C.; BARROS, C. M. Desenvolvimento folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça Gir. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, p. 201-210, 1998.

GIBBONS, J. R.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Relationship between follicular development and the decline in the follicle-stimulating hormone surge in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 60, p. 72-77, 1999.

GINTHER, O. J. Internal regulation of physiological processes through venoarterial pathways, a review. **Journal of Animal Science**, v. 39, p. 550-564, 1974.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOPF, L. Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 32, p. 787-95, 1989a.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrus cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 20, p. 187-200, 1989b.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycle with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, p. 223-30, 1989a.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Ovarian follicular dynamics in heifers during early pregnancy. **Biology of Reproduction**, v. 41, p. 247-254, 1989b.

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

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

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L. J.; KOT, K. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle. **Theriogenology**, v. 50, p. 507-519, 1998.

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

GINTHER, O. J.; BERGFELT, D. R.; KULICK, L. J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. **Biology of Reproduction**, v. 63, p. 383-389, 2000.

GINTHER, O. J.; BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; DONADEU, F. X.; KOT, K. Follicle selection in monovular species. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 638-647, 2001.

GINTHER, O. J.; BERGFELT, B. R.; BEG, M. A.; KOT, K. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 124, p. 475-482, 2002.

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

GONÇALVES, P. B. D. Transferência e Criopreservação de embriões Bovinos. **Biotécnicas Aplicadas a Reprodução animal**. 1. ed. São Paulo: Varela, 2001. cap. 8, p. 127-178.

GONZÁLEZ, F. H. D. **Hormonioterapia na reprodução**: p. 18. 2002. Disponível em: < [www.ufrgs.br/favet/bioquimica](http://www.ufrgs.br/favet/bioquimica).18p. 2002 >. Acesso em: 27.fev. 2011.

GREGORY, R. M. Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: **I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de estros em bovinos**, Porto Alegre, RS. Anais, p. 18-24, 2002.

HAFEZ, E. S.; HAFEZ, B. Hormônios, Fatores de Crescimento e Reprodução. In: HAFEZ, E. S.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7 ed. Barueri, SP. Ed Manole, 2004. p. 37-38.

KASTELIC, J. P. Folliculogenesis in cattle. In: **I Simpósio Internacional de Reprodução Aplicada**. Londrina – PR. Anais, p. 17-25, 2004.

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

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

KNOPF, K.; KASTELIC, J. P.; SCHALLENBERGER, E.; GINTHER, O. J. Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 6, p. 111-9, 1989.

KULICK, L. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Follicular and hormonal dynamics during the first follicular wave in heifers. **Theriogenology**, v. 52, p. 913-921, 1999.

LAMOGLIA, M. A.; SHORT, R. E.; BELLOWS, S. E.; BELLOWS, R. A.; MACNEIL, M. D.; HAFS, H. D. Induced and synchronized estrus in cattle. Dose titration of estradiol benzoate in prepubertal heifers and post-partum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2 $\alpha$ . **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1662-1670, 1998.

LANE, E. A.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F.; CROWE, M. A. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal progesterone-releasing intravaginal device. **Theriogenology**, v. 55, p. 1807-1818, 2001.

LUCY, M. C.; SAVIO, J. D.; BADINGA, R. L.; DE LA SOTA, R. L.; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3615-26, 1992.

LUSSIER, J. G.; MATTON, P.; DUFOUR, J. J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 81, p. 301-307, 1987.

MACEDO, D. B. **Dinâmica folicular ovariana em fêmeas bovinas *Bos indicus***. Revisão de literatura apresentada como parte das exigências da disciplina Seminário I do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Campo Grande - MS, 16p. 2008.

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

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

MACMILLAN, K. L. Pharmacological control of the oestrus cycle to improve the reproductive performance of cattle. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 61-64, 1999.

MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE, B. V. E.; PINO, C. S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 327-344, 2003.

MAPLETOFT, R. J.; BO, G. A.; PIERSON, R. A. Recruitment of follicles for superovulation. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 16, p. 127-41, 1994.

MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; ADAMS, G. P. Avanços na manipulação do ciclo estral de doadoras e receptoras nos programas de transferência de embriões em bovinos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 28, p. 24-51, 2000.

MAPLETOFT, R. J.; STEWARD, K. B.; ADAMS, G. P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reproduction, Nutrition and Development**, v. 42, p. 601-611, 2002.

MAPLETOFT, R. J.; MARTÍNEZ, M. F.; COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P. The use of the controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 28-36, 2003.

MARAÑA, D.; CUTAIA, L.; PERES, L.; PINCINATO, D.; BORGES, L. F. K.; BÓ, G. A. Ovulation and pregnancy rates in postpartum *Bos indicus* cows treated with progesterone vaginal inserts and oestradiol benzoate, with or without eCG and temporary weaning. [abstract]. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 18, p. 116-117, 2006.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. In: **V Simpósio Internacional de Reproducción Animal**, Córdoba, Argentina: pp. 392, 2003.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas Nelores submetidas a protocolos com ou sem eCG com diferentes indutores de ovulação (BE, hCG e GnRH). Apud in: BARUSELLI, P.S.; BÓ, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, 10., Londrina, 2004. Anais, p.155-165, 2004.

MARQUES, M. O.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; FIGUEIREDO, T. B.; SORIA, G. F.; BARUSELLI, P. S. Efeito do tratamento com PGF2 $\alpha$  na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. In: *Acta Scientiae Veterinariae*, 2005, Angra dos Reis/RJ. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 1, p. 287-287, 2005.

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

MELO, C. L. **Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação**. 2009. 41p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2009.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Association between the duration of the dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 123-130, 1994.

MIHM, M.; GOOD, T. E. M.; IRELAND, J. L. H.; IRELAND, J. J.; KNIGHT, P. G.; ROCHE, J. F. Decline in serum follicle-stimulating hormone concentration alters key intrafollicular growth factors involved in the selection of the dominant follicle in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 1328-1337, 1997.

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

MIHM, M.; BAKER, P. J.; IRELAND, J. L.; SMITH, G. W.; COUSSENS, P. M.; EVANS, A. C.; IRELAND, J. J. Molecular evidence that growth of dominant follicles involves a reduction in follicle-stimulating hormone dependence and an increase in luteinizing hormone dependence in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 74, p. 1051-1059, 2006.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Disponível no site [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br). Acessado em 10 de maio de 2010.

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

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONÇALVES, P. B. D. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, R. J.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**, Ed. Varela. São Paulo, 2002, cap.3, p. 25-55, 2002b.

MORITA, Y.; TILLY, J. L. Oocyte apoptosis: like sand through an hourglass. **Development of Biology**, v. 213, p. 1-17, 1999.

MOURA, M. T.; MARQUES, M. O.; BARUSELLI, P. S. Efeito do benzoato de estradiol na sincronização com Crestar e eCG para inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, p. 432-434, 2003.

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

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

PALHANO, H. B. Fisiopatologia da Reprodução. In: PALHANO, H. B. **Reprodução em Bovinos**, 2 ed. Rio de Janeiro, RJ. Ed L.F. Livros de Veterinária, 2008. p. 44-45.

PERRY, R. C.; CORAH, L. R.; KIRACOFÉ, G. H.; STEVENSON, J. S.; BEAL, W. E. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2548-55, 1991.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Reliability of diagnostic ultrasonography for identification and measurement of follicles and detecting the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**, v. 28, p. 929-36, 1987.

PIPER, P. J.; VANE, J. R.; WYLLIE, J. H. Inactivation of prostaglandins by the lungs. **Nature**, v. 225 (233), p. 660-604, 1970.

PORRAS, A. I.; GALINA, C. S. Utilización de progestagenos para la manipulación del ciclo estral bovino. **Veterinaria Mexico**, v. 23, p. 31-36, 1992.

PORTO FILHO, R. M. **Sincronização da ovulação para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) durante a estação reprodutiva desfavorável em fêmeas bubalinas**. São Paulo, 2004, 97p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

PRATT, S. L.; SPITZER, J. C.; BURNS, G. L.; PLYLER, B. B. Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **Journal of Animal Science**, v. 69, p. 2721-2726, 1991.

PRESTES, N. C.; ALVARENGA, F. C. L. Fecundação e Clivagem. In: ALVARENGA, F. C. L. **Obstetrícia Veterinária**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap. 1, p. 1-19.



RAJAMAHENDRAN, R.; THAMOTHARAM, M. Effect of progesterone releasing intravaginal device (PRID) on fertility in the post-partum in buffalo cow. **Animal Reproduction Science**, v. 6, p. 111-118, 1983.

RAJAMAHENDRAN, R.; TAYLOR, C. Follicular dynamics and temporal relationships among body temperature oestrus the surge of luteinizing hormone and ovulation in Holstein heifers treated with norgestomet. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 92, p. 461-467, 1991.

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

REIS, E. L. **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica eqüina no protocolo de sincronização da ovulação para TETF**. 2004. 101f. Dissertação (Mestrado em Medicina veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

RHODES, F. M.; DE'ATH, G.; ENTWISTLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 265-77, 1995.

ROCHA, J. L. **Sincronização hormonal da onda folicular e do estro em novilhas de corte mestiças monitoradas por radiotelemetria**. 2000. 125 p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2000.

ROCHE, J. F. Effect of short-term progesterone treatment on oestrus response and fertility in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 40, p. 433-440, 1974.

ROCHE, J. F.; BOLAND, M. P. Turnover of dominant follicle in cattle of different reproductive stage. **Theriogenology**, v. 35, p. 81-90, 1991.

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

ROMERO, A.; ALBERT, J.; BRINK, Z.; SEIDEL Jr., G. E. Numbers of small follicles in ovaries affect superovulation response in cattle. **Theriogenology**, v. 35, p. 265, 1991.

SÁ FILHO, O. G.; VASCONCELOS, J. L. M.; SANTOS, R. M.; ROSSINI, L. C. C. Efeito do momento da aplicação de PGF $2\alpha$  em protocolo de inseminação artificial com tempo fixo na taxa de concepção em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, p. 430-432, 2003.

SÁ FILHO, M. F.; REIS, E. L.; VIEL Jr., J. O.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Follicular dynamics in anestrus lactating Nellore treated with ear implant, eCG and GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 235, 2004.

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C. A.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nellore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v. 73, p. 651-658, 2010a.

SÁ FILHO, M. F.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; PENTEADO, L.; GIMENES, L. U.; FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; CASTRO e PAULA, L. A.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nellore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 118, p. 182-187, 2010b.

SAEG – Sistema para Análises Estatísticas e Genéticas, Versão 9.1 (Cópia de Demonstração): Fundação Arthur Bernardes – UFV – Viçosa, 2007.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; GIROTTO, R. W.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nellore beef cows. **Animal Reproduction Science** (2011), doi:10.1016/j.anireprosci.2011.02.007.

SANTIAGO, A. A. **A epopeia do Zebu**, 2009. Disponível em: [www.abcz.org.br](http://www.abcz.org.br). Acessado em 26/06/2011.

SAVIO, J. D.; BOLAND, M. P.; HYNES, N.; ROCHE, J. F. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 88, p. 569-579, 1990.

SAVIO, J. D.; KEENAN, L. BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of growth of dominant follicles during oesturs cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 83, p. 663-71, 1988.

SAVIO, J. D.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Development of dominant follicles and ovarian activity in the post-partum period of dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 88, p. 581-91, 1990.

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

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 308-17, 1988.

SMITH, R. D.; POMERANTZ, A. J.; BEAL, W. E.; MCCANN, J. P.; PILBEAM, T. E.; HANSEL, W. Insemination of Holstein heifers at a preset time after estrus cycle synchronization using progesterone and prostaglandin. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 792-800, 1984.

SMITH, M. F.; MCLINTOSH, E. W.; SMITH, G. W. Mechanisms associated with corpus luteum development. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 1857-1872, 1994.

SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Efeito do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. In: **I Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal**, 2006, Pirassununga, SP. Anais do 1º Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal, 2006. v. 1.

SOUZA, A. H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F. A.; SILVA, F. F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G. A.; WILTBANK, M. C.; BARUSELLI, P. S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocolo on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v. 72, p. 10-21, 2009.

SPICER, L. J. Proteolytic degradation of insulin-like growth factor binding proteins by ovarian follicles: a control mechanism for selection of dominant follicles. **Biology of Reproduction**, v. 70, p. 1223-1230, 2004.

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

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

TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 71, p. 61-8, 1991.

TOWNSON, D. H.; TSANG, P. C.; BUTLER, W. R.; FRAJBLAT, M.; GRIEL, L. C.; JOHNSON Jr., C. J.; MILVAE, R. A.; NIKSIC, G. M.; PATE, J. L. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1053-1058, 2002.

TURZILLO, A. M.; FORTUNE, J. E. Effects of suppressing plasma FSH on ovarian follicular dominance in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, p. 113-119, 1993.

VENERANDA, G.; FILLIPPI, L.; RACCA, D.; ROMERO, G.; BALLA, E.; CUTAIA, L.; BÓ, G. A. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time AI protocols. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 18, p. 118, 2006.

VASCONCELOS, J. L. M. **Avaliação da sincronização da ovulação e fatores relacionados com a produção de leite e taxa de concepção em vacas**. 1998. 116f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Jaboticabal, São Paulo.

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

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT, H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 495-501, 1982.

WILDT, L.; HAUSLER, A.; MARSHALL, G.; HUTCHISON, J. S.; PLANT, T. M.; BELCHETZ, P. E.; KNOBIL, E. Frequency and amplitude of gonadotropin-releasing hormone stimulation and gonadotropin secretion in the rhesus monkey. **Endocrinology**, v. 109, p. 376-385, 1981.

WILTBANK, M. C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. In: **Annual Meeting of the Society for Theriogenology**, Oregon, p. 83-97, 1997.

WILTBANK, M. C.; FRICKE, P. M.; SANGSRITAVONG, S.; SARTORI, R.; GINTHER, O. J. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1-10, 2000.

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