

**RAFAEL SILVA CIPRIANO**

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento  
folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de  
Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes  
concentrações de progesterona**

**Araçatuba – SP  
2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**RAFAEL SILVA CIPRIANO**

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre.**

**Orientador: Prof. Adj. Guilherme de P. Nogueira**

**Araçatuba – SP  
2007**

## DEDICATÓRIA

### **A minha família e ao meu saudoso pai**

Vocês sempre estiveram presentes, me apoiando e dando força nos momentos de dificuldade. Me fizeram crescer e formar o homem que hoje sou. Reconheço que por vocês e com vocês, conquistei esse objetivo. E que sem vocês não seria possível terminar mais essa etapa de minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, por proporcionar a realização deste trabalho e realização do curso de mestrado.

Ao Prof. Adjunto Guilherme de Paula Nogueira, pela dedicação, orientação, confiança, paciência e amizade durante essa caminhada.

Ao Prof. Dr. Marcelo Vasconcelos Meireles, coordenador do Programa de Pós-graduação desta instituição.

A Profa. Dra. Silvia Venturoli, pelas dúvidas na estatística.

A Devani Mariano Pinheiro, técnica do laboratório, que realizou os ensaios hormonais utilizados neste trabalho.

A TECNOPEC<sup>®</sup>, que cedeu todos os hormônios utilizados nos protocolos de IATF do experimento.

Aos amigos Fernando Lobo e Flávio Lobo, que colaboraram com o manejo e alimentação dos animais durante todo experimento.

Aos amigos Daniel Cardoso de Oliveira, Maria Paula Beltran e Anivaldo Olivio Corte Jr., companheiros de laboratório que colaboraram de alguma forma para este trabalho.

Ao amigo Guilherme Cazerta Lemos que sempre me aconselhou nas minhas dúvidas e tomadas de decisões, além de sempre estar disposto a ser meu companheiro de tereré.

A Natália Marangoni e Beatriz de Carvalho, alunas de iniciação científica, pela preparação de todo o material utilizado no experimento.

Às funcionárias da biblioteca, pela paciência em nos orientar nas buscas bibliográficas e revisões.

A FAPESP, que me proporcionou auxílio financeiro através da bolsa fornecida, sem ela não seria possível ter a dedicação a este trabalho.

E a todos que de alguma forma colaboraram com o sucesso deste trabalho.

“[...] nada é fixo para aquele que alternadamente pensa e sonha [...]”.

(Gaston Bachelard)

CIPRIANO, R. S. **Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona.** 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

## RESUMO

Avaliou-se a secreção de LH e FSH de plasmático em novilhas durante a exposição à diferentes concentrações de progesterona (P4) e após a administração de GnRH ou benzoato de estradiol (BE). Nove novilhas Nelore, pré-sincronizadas com PgF2 $\alpha$ , em intervalo de 12 dias, foram submetidas a 6 protocolos com repetições casualizadas. Os 3 grupos de P4 foram: CL (Corpo Lúteo), IMPL+CL (DIB<sup>®</sup> e corpo lúteo) e IMPL (DIB<sup>®</sup>), e após a remoção da P4 estimuladas com GnRH ou BE. Durante a P4, foi coletado sangue a cada 12 h e nos dias 3, 4 e 5 a cada 15 min durante 6 h em 1 animal de cada grupo, depois da retirada dos implantes e/ou aplicação de PgF2 $\alpha$ , coletas foram realizadas a cada 3 h por 24 h (BE) ou a cada hora por 10 h (GnRH) para quantificação de LH e FSH. O exame ultrassonográfico foi realizado a cada 12 h e após o término das coletas de sangue às 24h e 48h. Às 12 h após colocação do implante, o grupo IMPL+CL apresentou menor concentração de LH que o grupo IMPL, após 36 h os grupos IMPL+C e IMPL apresentaram menor concentração de LH que o grupo CL e às 60 h o grupo IMPL apresentou menor secreção que o grupo CL. Após 24 h da colocação dos implantes, o grupo IMPL apresentou maior secreção de FSH que os demais grupos, e após 48 e 60 h o grupo IMPL+CL apresentou maior secreção de FSH que o grupo CL. No grupo IMPL, a amplitude máxima do pico de LH foi maior após o GnRH quando comparado com o BE. No grupo CL as novilhas apresentaram menor número de folículos ovarianos e maior diâmetro do maior folículo em

relação aos grupos IMPL+CL e IMPL. Quando foi aplicado BE, o grupo IMPL+CL apresentou menor taxa de ovulação com 24 h que os grupos CL e IMPL. Os protocolos de sincronização da ovulação empregados foram eficientes em induzir um pico pré-ovulatório de LH em novilhas Nelore, independentemente da presença ou não de CL associado ao implante de progesterona. O tratamento com GnRH induziu um pico de secreção de LH de maior amplitude e com melhor eficiência para estimular a ovulação em 24 h que o BE, em animais com excesso de progesterona. O excesso de progesterona interferiu na secreção de FSH, no desenvolvimento folicular e na ovulação.

**Unitermos:** Nelore, IATF, GnRH, benzoato de estradiol, gonadotrofinas.



CIPRIANO, R. S. **LH, FSH levels and follicular development in Nelore heifers submitted to Fixed Time Artificial Insemination protocols with different progesterone concentration.** 2007. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

### ABSTRACT

The LH and FSH secretion and follicle profile was evaluated during exposition to different progesterone (P4) concentration and after GnRH or estradiol benzoate (BE) administration in Nelore heifers. Nine heifers were pré-synchronized with PGF<sub>2</sub>α (two injection with 12 days interval) received 6 treatments randomly repeated. There were 3 P4 groups: CL (corpus luteum), IMPL+CL (DIB<sup>®</sup> and CL) and IMPL (DIB<sup>®</sup>) that were stimulated with GnRH or BE after P4 removal. During P4 blood samples were collected every 12 h and on days 3, 4 and 5 every 15 min for 6 h from 1 animal per group, after P4 device removal, every 3 h for 24 h (BE) or every hour for 10 h (GnRH), for LH and FSH quantification. Ultrasound examination was realized every 12 h until the end of blood samples, and thereafter 24 and 48 h. At 12h after implant insertion the IMPL+CL group presented lower LH concentration than IMPL group, after 36 h the animals with implant presented lower LH concentration than CL group, and after 60 h the IMPL group had lower LH secretion than CL one. On IMPL group, the maximum LH peak amplitude was higher in animals that received GnRH compared to BE. Group with CL presented fewer follicles and higher largest follicle diameter than IMPL+CL and IMPL. When BE was injected the IMPL+CL group presented lower ovulation rate at 24 h than CL and IMPL groups. The ovulation synchronization protocols used were efficient in promoting a preovulatory LH peak in Nelore heifers, independently of an associated CL or not to progesterone device.

The GnRH treatment induced a higher LH peak amplitude and with an higher efficiency in stimulating ovulation in 24h than BE treatment, in animals with higher progesterone.. The progesterone excess interfered on FSH secretion, follicular development and ovulation.

**Unitermos:** Nelore, IATF, GnRH, estradiol benzoate, gonadotropins.

## SUMÁRIO

1 Introdução	11
2 Revisão de Literatura	13
2.1 Ciclo Estral	13
2.2 Sincronização do estro e da ovulação	17
2.3 Ultra-sonografia durante o ciclo estral	22
Referências	25
Artigo: Variação na secreção de LH, FSH e desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona	40
4 Conclusões finais	77
ANEXO – Normas do periódico indexado ao qual o artigo que compõem esta dissertação vai ser submetido à publicação.	78

## 1 Introdução

O rebanho bovino mundial se desenvolveu a partir da seleção dos animais e é hoje constituído por variedades como o *Bos taurus taurus* (gado doméstico de origem européia), *Bos taurus indicus* (gado doméstico da Índia, Ásia e África) e *Bubalus bubalis* (búfalo doméstico da Ásia, SANTIAGO, 1985; DOBSON; KAMONPATANA, 1986).

O país vive um momento especial na pecuária de corte, vislumbra diariamente a conquista de novos e exigentes mercados internacionais no que tange à qualidade do seu produto. Há grande expectativa do crescimento da pecuária de corte no Brasil, não só pelo aumento do mercado interno, mas também pela crescente participação do País no mercado mundial da carne bovina.

Informações sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas européias são mais numerosas em relação às zebuínas. A maioria das biotecnologias de manejo reprodutivo empregadas em gado europeu são transferidas para utilização no gado zebu, mas nem sempre é possível comparar os resultados obtidos no exterior com os resultados obtidos no Brasil.

O melhoramento genético dos rebanhos de corte e de leite – baseado na seleção de indivíduos com maior rendimento de carcaça, maior produção leiteira e precocidade sexual – possibilitou o aumento da produção de carne e leite. No entanto, a rápida multiplicação desse material genético só é possível com o emprego de técnicas reprodutivas eficientes e com o adequado manejo dos animais. A inseminação artificial (IA) é a técnica mais utilizada em todo o mundo para multiplicar e acelerar o ganho genético dos rebanhos (BO et al., 2001), mas seu emprego ainda tem algumas limitações, decorrentes do manejo para a detecção de estro, do momento da realização da inseminação e da baixa taxa de prenhez ao

final dos programas de IA, principalmente no gado zebu.

Uma alternativa para o problema da detecção do estro é a utilização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). O principal intuito é o desenvolvimento de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) que permitam aos criadores inseminarem as vacas sem a necessidade de observação de sinais de estro. Estes protocolos devem otimizar o uso do tempo, da mão-de-obra e dos recursos financeiros, permitindo que mais animais emprehem com a inseminação artificial (LAMB, 2004). Tratamentos hormonais visando sincronizar o estro e a ovulação têm sido empregados com sucesso em fêmeas européias e zebuínas.

A raça Nelore (*Bos taurus indicus*) é o gado de corte predominante em nosso país (SANTIAGO, 1985), torna-se importante estudar a fisiologia reprodutiva destes animais, assim como a resposta dos mesmos a diferentes fármacos utilizados em técnicas que aumentam a eficiência reprodutiva, tais como a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), transferência de embriões e fertilização "in vitro", possibilitando uma maior eficiência reprodutiva e maior retorno econômico dos produtores criadores dessa raça.

O objetivo do trabalho foi de verificar se a exposição prévia à progesterona sintética na forma de implante, na presença ou não de CL, interfere na secreção de LH, FSH, no desenvolvimento folicular e na taxa de ovulação, após administração de lecirelina (GnRH) ou BE, em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*), e as características da secreção de LH e FSH (amplitude e frequência de pulsos) durante o período de exposição a progesterona endógena (corpo lúteo) e/ou exógena (implante). Como os protocolos são feitos em novilhas independentemente da fase do ciclo estral, novilhas que começassem a ser sincronizadas com um corpo lúteo estariam expostas à duas fontes de progesterona, uma endógena e outra exógena.

A hipótese foi de que o excesso de progesterona em novilhas com CL associado ao implante de P4 interfere na secreção de LH e FSH, comprometendo o desenvolvimento folicular, a ovulação e comprometendo o pico de LH após a retirada do implante, e que a estimulação com lecirelina (GnRH) ou BE induz um pico pré-ovulatório de LH após a retirada dos implantes.

## **2 Revisão de Literatura**

### **2.1 Ciclo Estral**

O ciclo estral compreende os eventos relacionados com a reprodução que ocorrem entre dois períodos de receptividade sexual (estros ou cios). As fêmeas da espécie bovina, ao atingirem a puberdade exibem cio aproximadamente a cada 21 dias, até que a prenhez se estabeleça. O estro é caracterizado pela receptividade sexual, onde a fêmea permite ser montada (BLOCKKEY, 1980; ESSLEMONT et al., 1980), porém existem outros sinais como muco vaginal transparente, edema vulvar, micção freqüente e inquietação, que auxiliam na identificação do animal em estro (HAFEZ, 1993).

A regulação deste ciclo é realizada a partir de mecanismo endócrinos e neuro-endócrinos envolvendo, principalmente, os hormônios hipotalâmicos GnRH (hormônio liberador de gonadotrofinas), hipofisários LH (hormônio luteinizante) e FSH (hormônio folículo estimulante) e gonadais como estradiol ( $E_2$ ), progesterona ( $P_4$ ) e inibina. O GnRH é sintetizado por neurônios hipotalâmicos e após ser liberado sob a forma de pulsos (CLARKE, 1988) atinge a adenohipófise através do sistema porta-hipotálamo-hipófise, onde determina a síntese e secreção de LH e FSH, os quais induzem a produção dos esteróides gonadais (estradiol e progesterona). Durante a maior parte do ciclo estral (CE),

ambos hormônios inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (CLARKE, 1988; PRICE, WEBB; 1988; GOODMAN; KARSCH, 1980). O LH é liberado sob a forma de pulsos que variam em frequência e amplitude refletindo a secreção de GnRH (WRIGHT; MALMO, 1992; RAHE et al., 1980; HAUGER et al., 1977).

Após a ovulação, a concentração de progesterona aumenta progressivamente e atinge concentrações máximas, entre o 5º e 11º dias do ciclo estral (MIHM et al., 1996). No início da fase luteínica (3 a 4 dias após a ovulação), momento em que a progesterona é baixa, ocorre 1 pulso de LH a cada 1 ou 2 horas. Na fase luteínica média, quando as concentrações de progesterona atingem valores máximos, a frequência é de 1 pulso a cada 3 ou 4 horas (MIHM et al., 2002; MIHM et al., 1996). Após a luteólise, a concentração sérica de progesterona diminui a níveis inferiores a 1 ng/ml, o que permite um aumento na frequência dos pulsos de LH (KARSCH, 1987; GOODMAN; KARSCH, 1980).

O aumento na frequência de pulsos de LH estimula a maturação do folículo dominante que passa a secretar quantidades crescentes de 17  $\beta$ -estradiol (FORTUNE et al., 1988; IRELAND; ROCHE, 1987). O estradiol, na ausência da progesterona, estimula a síntese de receptores para GnRH na hipófise (SCHOENEMANN et al., 1985) tornando-a mais sensível ao GnRH (KESNER et al., 1981) ao mesmo tempo que aumenta a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH (NOGUEIRA, 2006; HANSEL; CONVEY, 1983) e estimula a secreção de gonadotrofinas, o que resulta no pico de LH (HURNIK, 1987; WALTERS; SCHALLENBERGER, 1984) e na ovulação do folículo dominante (MUKASA-MUGERWA, 1989; CLARKE, 1988; KARSCH et al., 1979).

A manifestação do estro ocorre pela ação do 17  $\beta$ -estradiol sobre o sistema nervoso

central. A maior produção de estrógenos provém dos folículos ovarianos, cuja relação estradiol/progesterona, no fluído folicular, é maior do que 1. Quando o folículo inicia o processo de atresia, a produção de estradiol cessa e a concentração de progesterona aumenta, como ocorre com os folículos subordinados ou quando o folículo dominante perde a dominância (MIHM et al., 2002). O estro é induzido por alta concentração plasmática de  $17 \beta$ -estradiol, que sob baixas concentrações de progesterona ( $< 1,0$  ng/ml), também induz o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação (CUPP et al., 1995; SUNDERLAND et al., 1994; STUMPF et al., 1989; SHORT et al., 1979).

Os níveis tônicos ou basais de LH agem em conjunto com o FSH para induzir a secreção de estradiol pelo folículo dominante. A onda pré-ovulatória de LH é responsável pela ruptura da parede folicular (ovulação) (HAFEZ, 1993), uma onda de FSH (“pico”) é verificada no momento da liberação do pico pré-ovulatório de LH (MIHM et al., 2002; MIHM; AUSTIN, 2002; CAVALIERI et al., 1997; ADAMS et al., 1992; KANEKO et al., 1991).

O FSH é responsável pela emergência das ondas foliculares durante o ciclo estral, há um aumento plasmático de FSH, entre 1 e 2 dias antes do início de cada onda folicular (GONG et al., 1996; GINTHER et al., 1996; GONG et al., 1995; SUNDERLAND et al., 1994; ADAMS et al., 1992a; ADAMS et al., 1992b; HAMILTON et al., 1992), sendo essencial para o mecanismo de recrutamento e posterior seleção do folículo dominante (MIHM; AUSTIN, 2002; MIHM et al., 2002; GINTHER et al., 1999; GINTHER et al., 1997).

Enquanto altas concentrações de FSH são necessárias para iniciar a emergência da onda folicular (MIHM; AUSTIN, 2002; MIHM et al., 1996; ADAMS et al., 1992), baixas



concentrações asseguram o crescimento exclusivo do folículo dominante selecionado, impedindo o desenvolvimento de uma nova onda folicular (KASTELIC et al., 1990).

Após a seleção, o folículo dominante continua a crescer, aumentando a secreção de 17  $\beta$ -estradiol e inibina, e os teores basais de FSH, entre 0,1 a 0,4 ng/ml (MIHM et al., 2002), são insuficientes para induzir o crescimento de folículos pequenos (MIHM; AUSTIN, 2002; MIHM et al., 2002; GINTHER et al., 1999; GINTHER et al., 1997; FINDLAY, 1994).

Enquanto nas raças européias, o estro dura cerca de 18 horas e a ovulação ocorre 10-12 horas após o seu final (HUNTER; WILMUT, 1984; HANSEL; ECHTERNKAMP, 1972; WISHART, 1972), nos zebuínos o cio é de apenas 11 horas podendo variar de 1,3 a 20 horas (GALINA; ARTHUR, 1990; MUKASA-MUGERWA, 1989). Nas raças européias a duração do ciclo estral é de  $21 \pm 3,7$  dias para vacas e de  $20 \pm 2,3$  dias para novilhas (ROBINSON; SHELTON, 1991). A variação para as raças indianas (Zebu, *Bos taurus indicus*) é de 17 a 24 dias (GALINA; ARTHUR, 1990; MUKASA-MUGERWA, 1989; ANDERSON, 1936, 1944;).

Foi verificado por meio de ultra-sonografia em vacas Nelore que o intervalo entre o início do cio e a ovulação foi de 26,7 horas e a duração do cio de aproximadamente 11 horas, com estro natural ou induzido por PGF<sub>2</sub>  $\alpha$ . Além disso, foi observado que 54% dos animais iniciavam o cio durante o período noturno e desses, 30% apresentaram início e fim do cio entre 18 e 3:30 horas (PINHEIRO et al., 1998).

Através do sistema Heat Watch®, MIZUTA (2003), observou que o intervalo entre o início do estro e ovulação foi de  $27,1 \pm 3,3$  horas,  $26,1 \pm 6,3$  horas e  $25,7 \pm 7,6$  horas, respectivamente para vacas Nelore, Angus e Nelore  $\times$  Angus.

## 2.2 Sincronização do estro e da ovulação

Um dos maiores problemas nos programas de inseminação artificial continua sendo a metodologia empregada na detecção do estro. A simples observação diária do comportamento sexual de vacas e novilhas permite a identificação do estro (aceitação de monta), entretanto, a frequência (duas a quatro vezes ao dia) e o tempo (15 a 60 minutos) dispendido nesta observação influenciam na acurácia da detecção do estro (VACA, et al., 1985).

A eficiência da técnica de IA depende da porcentagem de estros detectados. É calculada com o número de vacas detectadas em cio dividido pelo número de cios esperados em um determinado período de tempo, multiplicado por 100. A acurácia de detecção corresponde à porcentagem de animais detectados que estão realmente em estro. Pode ser estimada a eficiência da técnica de IA pela taxa de concepção, taxa de não retorno ao estro, palpação retal do trato reprodutivo, e também pela análise dos teores de progesterona no plasma sanguíneo ou no leite (HEERSCHÉ; NEBEL, 1994).

Rebanhos em que a identificação de estros é realizada de maneira incorreta, apresentam diminuição do desempenho reprodutivo e, conseqüentemente aumento no período de serviço e no intervalo entre partos, acarretando prejuízos ao produtor (BARUSELLI, 2001).

Uma das formas de controlar esse problema é a utilização de protocolos de sincronização da ovulação que permitam realizar a IA em horário pré-determinado em todos os animais, sem a necessidade de detecção do cio (BARROS et al., 2000). Essa alternativa permite aumentar significativamente o número de animais inseminados, e é

chamada de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (BÓ et al., 2001).

O objetivo de um bom programa de sincronização é o controle preciso da ovulação, que possibilita a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sem detecção do cio. Porém, isso precisa estar aliado a altos índices de fertilidade e eficiente sincronização da ovulação (THATCHER et al., 2004).

Diversos fármacos têm sido utilizados na sincronização da ovulação de bovinos facilitando o manejo dos animais e favorecendo a implantação de técnicas que promovem o melhoramento genético do rebanho, tais como inseminação artificial, transferência de embriões (WRIGHT; MALMO, 1992) e a fertilização “in vitro” (FIRST et al., 1987).

Os dois sistemas mais populares de sincronização são os agentes luteolíticos e as drogas à base de progesterona, utilizadas para encurtar ou prolongar a fase progestacional (PORRAS; GALINA, 1992).

A partir de 1960, os progestágenos começaram a ser empregados na sincronização de estro em bovinos (HANSEL; CONVEY, 1983). Estes esteróides suprimem a manifestação do estro durante o período do tratamento e os animais somente apresentarão cio após a retirada do fármaco (ODDE, 1990). A sincronização com progestágenos ou prostaglandinas têm mostrado uma taxa de fertilidade de cerca de 40% e 50% para o primeiro e segundo serviços, respectivamente (GALINA; ARTHUR, 1990). O uso de progestágenos por períodos superiores a 14 dias tem sido associado com altas taxas de sincronização, porém baixa fertilidade (WRIGHT; MALMO, 1992).

A partir de 1972 foram demonstrados os efeitos luteolíticos da PGF 2 $\alpha$  em vacas (ROWSOW et al., 1972) propiciando o surgimento de potentes análogos sintéticos desta luteolisina (LAUDERDALE, 1972; LOUIS et al., 1972). Em geral a prostaglandina e seus análogos são ineficazes em promover luteólise durante os primeiros cinco dias do ciclo

estral (ODDE, 1990). A fim de evitar esta fase inicial do ciclo estral, duas doses de PGF 2 $\alpha$  são administradas com intervalo de 10 a 14 dias, obtendo-se assim melhores índices de sincronização do estro após a segunda dose (DAYLEY et al., 1983).

A segunda geração de protocolos de sincronização de estro envolve o uso de progestágenos, que (enquanto administrados) impedem a ocorrência do estro. Os progestágenos são utilizados para retardar o momento do estro após a luteólise natural ou induzida e prolongar a duração do ciclo estral (LAMB, 2004).

STOCK; FORTUNE (1993) utilizando vacas com dois implantes de progesterona, encontraram na maioria dos animais altos níveis de P4 (6 ng/ml), que diminuiu a frequência de pulsos de LH e o desenvolvimento folicular, diminuiu a secreção do GnRH, atrasando o pico de LH para 82,6 h após retirada dos implantes e conseqüentemente a ovulação. Por outro lado, em baixas concentrações de P4 administrada em doses subluteínicas, foi observado um ciclo estral mais longo devido à persistência do folículo ovulatório, conseqüência da reduzida produção do estradiol- 17 $\beta$  e atraso do pico do LH (SIROIS; FORTUNE, 1990; IRELAND; ROCHE, 1982). A manutenção de concentrações baixas de progesterona favorecem um aumento na frequência dos pulsos de LH (STOCK; FORTUNE, 1993; IRELAND; ROCHE, 1982) que estimula o folículo dominante a crescer.

A colocação do implante subcutâneo durante 9 dias (6 mg de norgestomet), associada à aplicação intramuscular de 3 mg de norgestomet e 5 mg de valerato de estradiol promoveu a sincronização do estro, inclusive em novilhas acíclicas (WHILTBANK, 1975). Embora a combinação progestágeno e estrógeno possa aumentar as taxas de sincronização e fertilidade (SMITH; KALTENBACH, 1990; SMITH; MACGOWAN, 1982), a ação luteolítica indireta do estrógeno depende do estágio do ciclo estral do animal (BURNS et al., 1992; SANCHEZ et al., 1992; PRATT et al., 1991).

Até pouco tempo, os estudos se concentravam principalmente na sincronização do estro, porém, a disponibilização do GnRH ofereceu aos pesquisadores a oportunidade de direcionar seus esforços para a sincronização da ovulação e não mais apenas do estro. A vantagem clara foi o desenvolvimento de protocolos de IATF que permitem aos criadores inseminarem as vacas que não exibem sinais de estro. Estes esforços devem otimizar o uso do tempo, da mão-de-obra e dos recursos financeiros, permitindo que mais animais emprenhem com a inseminação artificial (LAMB, 2004). A resposta dos ovários à administração de GnRH depende da fase de crescimento folicular em que a vaca se encontra (GEARY et al., 2000).

Os pesquisadores incorporaram nos protocolos de sincronização da ovulação o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), que é capaz de induzir ondas pré-ovulatórias de LH em novilhas pré-púberes (SKAGGS et al., 1986) e a ovulação de folículos tamanho grande (10 mm) presentes no momento da injeção (WOOD et al., 2001; THOMPSON et al., 1999). A maioria desses sistemas se baseou na detecção visual do estro para obter resultados satisfatórios (CASSADY et al., 1999; STEVENSON et al., 1999).

Segundo estudos realizados por Larson et al., (2004b) o estro em novilhas pode ser sincronizado de forma eficaz com uso do GnRH, PGF 2 $\alpha$  e CIDR. A utilização de progestágenos em combinação com PGF 2 $\alpha$  promove melhor sincronização do estro, especialmente se a PGF 2 $\alpha$  for administrada 24 a 48 horas antes do término do tratamento com o progestágeno (MACMILLAN et al., 1995; ODDE, 1990).

Uma estratégia de controle do momento da ovulação é a aplicação de estradiol exógeno, que é capaz de induzir um pico de LH pelo estímulo à secreção de GnRH pelo hipotálamo, quando administrado em um ambiente com baixo nível de progesterona no final do diestro e proestro. O pico de LH induzido pelo estradiol dura cerca de 10 horas, o

que se assemelha ao pico espontâneo e é mais extenso do que o induzido pelo GnRH (THATCHER; BARTOLOME, 2004).

Foi demonstrado (COLAZO et al., 2004; COLAZO et al., 2003; MARTINEZ et al., 2002), que tanto o GnRH quanto o estradiol podem ser usados com sucesso para induzir o pico pré-ovulatório de LH. O excesso de P4 (2 implantes), não interferiu na secreção de LH em novilhas, mas diminuiu a secreção de LH em vacas, após administração de GnRH, mostrando diferente resposta em função da idade e status reprodutivo. A taxa de crescimento do folículo dominante foi semelhante, mas a resposta ovulatória foi maior nas novilhas com menor concentração de P4 (90% para baixa P4 e 30% para alta P4), mostrando que a quantidade excessiva de P4 interferiu no desenvolvimento folicular (COLAZO et al., 2007).

Outra estratégia é a utilização da sincronização da onda folicular, de modo que resulte em ovulação sincronizada. A associação de estrógenos e progestágenos foi testada por BO et al. (1996, 1995, 1994) e que verificaram o crescimento sincronizado de uma nova onda folicular cerca de 4 a 5 dias após a sua aplicação. Segundo WISHART; YOUNG (1974), o estradiol é utilizado como agente luteolítico, e o progestágeno para inibir o desenvolvimento do corpo lúteo em fêmeas que ovularam recentemente, ou para prevenir a ovulação se o tratamento for iniciado no final do ciclo estral.

A maioria dos trabalhos mostram que a associação de P4+estradiol suprime a secreção de gonadotrofinas. Foi demonstrado que a administração de estradiol suprimiu o desenvolvimento do folículo antral por diminuir a concentração de FSH (BO et al., 1995 a, 1994) e esta supressão foi maior quando a aplicação se deu após inserção de um implante de norgestomet (Progestágeno) (BO et al., 1995b). A associação de BE e uma dose adicional de P4 junto da colocação do implante provocou menor variação no momento da

emergência de uma nova onda (quando comparado com animais sem progesterona), porém não aumentou a taxa de prenhez (WHITTAKER et al., 2002; MORENO et al., 2001; BO et al., 2000). A administração de 1 mg de BE em novilhas de corte com implante de P4, provocou emergência de uma onda folicular em 4 dias (MARTÍNEZ et al., 2002a). Convém lembrar que o efeito do estradiol sobre a secreção de LH depende da dose administrada e do tempo que este permanece na circulação (BO et al., 2006).

A associação de P4 com estradiol suprimiu a secreção de LH em vacas holandesas (BURKE et al., 1996), em novilhas Brahman (MURRAY et al., 1998), causou regressão em folículos dependentes de LH, e sincronizou a emergência de uma nova onda em vacas Hereford (MARTÍNEZ et al., 2005) e holandesas (CAVALIERI et al., 2003), também foi notado um menor intervalo entre a emergência de uma nova onda folicular e a ovulação além da redução do diâmetro do folículo ovulatório. No entanto outros autores mostram que a associação de P4 com o estradiol não interferiu nos pulsos de secreção de LH em vacas em anestro pós-parto com bezerros isolados (MACKEY et al., 2000). Também foi relatado um aumento na frequência dos pulsos de LH na fase folicular em comparação com a fase luteínica em novilhas que receberam implante de P4 (BRIDGES; FORTUNE, 2003).

### **2.3 Ultra-sonografia durante o ciclo estral**

A utilização da ultra-sonografia para monitoramento dos ovários proporcionou significativo aumento dos conhecimentos sobre dinâmica folicular, bem como os da resposta aos tratamentos hormonais sobre os folículos ovarianos, permitindo o desenvolvimento de estratégias para incrementar as taxas de concepção e prenhez.

Em fêmeas bovinas de raças européias (GINTHER et al., 1989; KNOPF et al.,

1989) ou zebuínas (GAMBINI et al., 1998; FIGUEIREDO et al., 1997; RHODES et al., 1995) o crescimento folicular exibe um padrão de ondas, as quais ocorrem periodicamente em diferentes fases reprodutivas (GINTHER et al., 1997). Cada onda folicular é composta por três fases distintas: fase de recrutamento, seleção e dominância (SIROIS; FORTUNE, 1990).

Estudos ultra-sonográficos realizados em bovinos da raça Nelore (FIGUEIREDO et al., 1996; BARROS et al., 1995) mostram predominância de duas ondas de crescimento folicular para vacas e três ondas de crescimento folicular para novilhas. O início da diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos da onda foi definido por GINTHER et al. (1996) como divergência ou desvio.

O processo de seleção folicular é regulado sistemicamente pelo FSH e LH (BEG et al., 2002) e localmente por fatores que modulam a ação das gonadotrofinas (GINTHER et al., 2001b), além de outros fatores que agem possivelmente independentes das gonadotrofinas (ARMSTRONG; WEEB, 1997).

A dinâmica folicular é alterada de maneira dose-dependente pela progesterona. Durante a fase de crescimento folicular e início do platô, doses acima das fisiológicas (200 dg/dia), induziram o folículo dominante à atresia, mesmo na presença de concentração baixa plasmática de  $17\beta$ -estradiol (ADAMS et al., 1992). No momento em que o folículo dominante torna-se LH-dependente, para manter seu crescimento (folículos entre 8 e 9 mm – CROWE, 1999), a diminuição da frequência dos pulsos de LH o induz à atresia (SUNDERLAND et al., 1994). Altas concentrações de progesterona não interferiram no padrão de liberação do FSH, sugerindo que este não tenha participação no processo de atresia induzida pela progesterona (ADAMS et al., 1992).



A sincronização do estro e da ovulação depende do controle de alguns fatores relevantes, como prevenção do desenvolvimento de folículos persistentes que contêm oócitos envelhecidos, recrutamento da nova onda de crescimento folicular, independentemente do estágio do ciclo estral, manipulação da fase luteínica e sincronização precisa do futuro folículo ovulatório (DRIANCOURT, 1991).

Sob concentrações de progesterona abaixo das fisiológicas (3,0 ng/ml), o folículo dominante mantém seu crescimento por período anormalmente longo (persistência folicular), impedindo o início da nova onda folicular (ADAMS et al., 1992).

GINTHER et al., (1999) atribuíram à diminuição da concentração plasmática de FSH como um dos mecanismos essenciais para o desvio que ocorre entre dois folículos grandes presentes na mesma onda folicular. O momento do desvio corresponde à mudança na taxa de crescimento dos folículos. Quando o folículo alcança o diâmetro de aproximadamente 8,4 mm (*Bos taurus*) e ocorre a diminuição dos teores de FSH, este folículo mantém seu crescimento, enquanto a taxa de crescimento do segundo folículo de maior tamanho começa a diminuir, após o desvio, os folículos podem ser classificados como dominantes ou subordinados.

O aumento na concentração sérica de FSH antecede em 1 a 2 dias a emergência de cada onda folicular e diminui após a seleção do folículo dominante (GIBBONS et al., 1999; ADAMS et al., 1992). As concentrações de FSH são mantidas em níveis basais até o folículo dominante perder sua dominância, resultando em novo aumento nos níveis de FSH e subsequente emergência da próxima onda folicular (BODENSTEINER et al., 1996).

## Referências

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. **J. Reprod. Fertil.**, v.95, n.2 p. 627-40, 1992a.

ADAMS,G.P; MATTERI, R.L; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H. Association between surges of follicle stimulating and the emergence of follicular waves in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v.94, n.1, p. 177-88, 1992b.

ANDERSON, J. The periodicity and duration of oestrus. In Zebu and grade cattle. **J. Agric. Sci.**, v. 34, p.57-68, 1944.

ANDERSON, J. Studies on reproduction in cattle. I. The periodicity and duration of oestrus. **Emp. J. Exp. Agric.**, v. 4, p. 186-95, 1936.

ARMSTRONG, D.G.; WEEB, R. Ovarian follicular dominance: the role of intraovarian growth factors and novel proteins. **Rev. Reprod.**, v. 2, p. 139-46, 1997.

BARROS, C.M.; FERNANDES, P.; NOGUEIRA, M.F.G. Controle farmacológico do ciclo estral e superovulação em zebuínos de corte. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES. VRA-FMVZ-USP, 2000, São Paulo. **Proceedings...** v. 1, p. 158-189.

BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; PINHEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Rev. Brás. Reprod. Anim.**, v.19, p.9-22,1995.

BARUSELLI, P. S. Reproduction em bufalos lecheros. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, 4., 2001B, Cordoba. **Proceedings...** v. 1 p. 149-179.

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. **Biol. Reprod.**, v. 66, p. 120-126, 2002.

BERGFELT, D.R.; SMITH, C.A.; ADAMS, G.P.; GINTHER, O.J. Surges of FSH during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle in heifers. **Theriogenology**, v. 48, p.757-68, 1997.

BLOKEY, M.A. Sheep and cattle mating behaviour. **Rev. Rural Sci.**, v. 4, p.53-62,1980.

BO, G.A.; CUTAIA, L.; BROGLIATTI, G.M. Programas de inseminacion artificial a tempo fijo em ganado bovino utilizando progestagenos y estradiol. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, IRAC, 2001, Cordoba. **Annales...** p. 117-136.

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

BO, G.A.; COLAZO, M. G.; MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R.J. Sincronizacion de la emergencia de la onda folicular y la ovulación em animales tratados com progestagenos y diferentes esteres de estradiol. IN: SIMPÓSIO INTERN. DE REPR. ANI. APLIC., II., 2006, Londrina. **Anais...** São Paulo: USP, 2006. p. 71-84.

BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.F.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with estradiol in cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 39, p. 193-204, 1995a.

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

BO, G.A.; BERGFELT, D.R.; BROGLIATTI, G.M.; PIERSON, R.A.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 $\beta$  on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 59, p. 141-157, 2000.

BODESTEINER, K.J.; KOT K.; WILTBANK M.C.; GINTHER O.J. Synchronization of emergence of follicular wave in cattle. **Theriogenology**, v. 45, p. 115-128, 1996.

BOLT, D. J.; SCOTT, V.; KIRACOFE, G. H. Plasma LH and FSH after estradiol, norgestomet and Gn-RH treatment in ovariectomized beef heifers. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 23, p. 263-271, 1990.

BRIDGES, P.J.; FORTUNE, J.E. Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle. **Dom. Ani. Endocrinology**, v.25, p.199-214, 2003.

BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L.; BOLAND, M.P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 45, p. 13-28, 1996.

BURNS, P.D.; SPITZER, J.C.; BRIDGES, W.C. Effects of metestrus administration of Syncro-Mate B on development and function of corpora lutea and pulsatile LH release in suckled beef cows. **J. Anim. Sci.**, v. 70, p.2, suppl.1, 1992.

CASSADY, J.M.; WHEATON, J.E.; ZEHNDER, C.M.; DICONSTANZO, A.; LAMB, G.C.; SEGUIN, B. Sincronização do estro in beef heifers using MGA and PGF $_{2\beta}$  or GnRH and PGF $_{2\alpha}$ . **J. Anim. Sci.**, v.77(suppl.1), p. 226, 1999.

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 hormonal concentrations in Holstein cows. **Ani. Reprod. Sci.**, v.76, p.177-193, 2003.

CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; ENTWISTLE, K.W.; FITZPATRICK, L.A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, n. 4, p. 801-14, 1997.

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

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

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

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; DAVIS, H.; RUTLEDGE, M. D.; MARTINEZ, M. F.; SMALL, J. A.; MAPLETOFT, R. J. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Dom. Ani. Endocrinology**, 2007. Disponível em: <http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/dae>. Acesso em: 03 Abril, 2007.

CROWE, M.A. Gonadotrophic control of terminal follicular growth in cattle. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 34, p. 157-66, 1999.

CUPP, A. S.; STUMPF, T.T.; KOJIMA, F.N.; WERTH, L.A.; WOLFE, M.W.; ROBERSON, M.S.; KITOK, R. J.; KINDER, J.E. Secretion of gonadotrophins change during the luteal phase of the bovine oestrus cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17  $\beta$  estradiol. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 37, n. 2, p. 109-19, 1995.

DAYLE, R.A.; JAMES, R.E.; ISNKEEP, E.K. Synchronization of estrus in dairy heifers

with or without estradiol benzoate. **J. Dairy Sci.**, v.66,p.881-6, 1983.

DOBSON, H.; KAMONPATANA, M. A review of female cattle reproduction with special reference to a comparison between buffaloes, cows and zebu. **J. Reprod. Fertil.**, v.77,p.1-36, 1986.

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

ESLEMONT,R.J.; GLENCROSS, R.G.; BRYANT, M.J. A quantitative study of pre-ovulatory behavior in cattle (British Friesan heifers). **Appl. Anim. Ethol.** V.6,p.1-7, 1980.

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

FINDLAY, J.K. Pheripheral and local regulators of folliculogenesis. **Reprod. Fertil. Develop.**, v. 6, p. 127-39, 1994.

FIRST, N.L.; PARRISH, J.J. In-vitro fertilization of ruminants. **J. Reprod. Fertil.**, v.34,p.151-65, suppl.,1987.

FORTUNE J.E.; SIROIS J.; QUIRK, S.M. The growth and differenciation os ovarian follicular during the bovine estrous cycle. **Theriogenology**, v.29, p.95-109, 1988.

GALINA, C.S.; ARTHUR,G.H. Review on cattle reproduction in the tropics. Part 4. Oestrus cycles. **Anim. Breed. Abst.**, v.58, p.697-707, 1990.

GAMBINI, A.L.G.; MOREIRA, M.B.P.; CASTILHO, C.; BARROS, C.M. Dinâmica follicular e sincronização da ovulação em vacas da raça gir. **Rev. Brasil. Reprod. Ani.**, v. 22,p.201-210, 1998.

GEARY, T.W.; DOWNING, E.R.; BRUEMMER, J.E.; WHITTIER, J.C. Ovarian and estrous response of suckled beef cows to select synch synchronization of estrous protocol. **Prof. Anim. Sci.**, v. 16, p.1-5, 2000.

GIBBONS, J.R.; WILTBANK, M.C.; GINTHER, O.J. Functional interrelationships between follicles greater than 4 mm and the follicle-stimulating hormone surge in heifers. **Biol. Reprod.**, v.57, p. 1066-1073, 1997.

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

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. 1079-93, 1999.

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

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; DONADEU, F.X.; KOT, K. Follicle selection in monovulvar species. **Biol. Reprod.**, v. 65, p. 638-47, 2001b.

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

GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; PETERS, A.R.; WEBB, R. Effects of chronic treatment with a potent gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian fuction in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, V. 105, p. 263-70, 1995.

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

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

HAFEZ, E.S.E. **Reproduction Farm Animal**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.573.

HAMILTON, S.A.; XU, Z.Z.; KIEBORZ, K.R.; YONGQUIST, R.S.; GARVERICK, H.A. Relationship between ovarian follicular dynamics and follicle-stimulating hormone levels during the bovine estrous cycle. **J. Anim. Sci.**, v.70, suppl.1, p.261-23, 1992.

HANSEL, W.; CONVEY, E.M. Physiology of the estrus cycle. **J. Anim. Sci.**, v.57, suppl.2, p.404-23, 1983.

HANSEL, W.; ECHTERNKAMP, S.E. Control of ovarian functions in domestic animals. **Am. Zool.** V.12, p.225-43, 1972.

HAUGER, R.L.; KARSCH, F.J.; FOSTER, D.L. A new concept for the control of estrus cycle in the ewe on the temporal relationship between luteinizing hormone estradiol and progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretions. **Endocrinology**, v.101, p. 807-17, 1977.

HEERSCHKE, G.; NEBEL, R.L. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. **J. Dairy Sci.**, v. 77, n. 9, p.2754-61, 1994.

HUNTER, R.H.F; WILMUT, I. Sperm transport in the cow: peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. **Reprod. Nutr. Dev.**, v.24, p.597-608, 1984.



HURNIK, J. F. Sexual behaviour of female domestic mammals. **Vet. Clin. North Am., Food Anim. Pract.**, v. 3, p. 423-61, 1987

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

JOHNSON, A. D.; ULBERG, L. C. Influence of exogenous progesterone on follicular cysts in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** v. 50, p. 758-761, 1967.

KANEKO, H.; TERADA, T.; TAYA, K.; WATWANE, G.; SASAMOTO, S.; HASEGAWA, Y.; IGARASHI, M. Ovarian follicular dynamics and concentrations of oestradiol-17  $\beta$ , progesterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. **Reprod. Fertil. Develop.**, v. 3, n. 5, p. 529-35, 1991.

KARSCH, F.J. Central actions of ovarian steroids in feedback regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. **An. Rev. Physiol.**, v. 49, p. 365-82, 1987.

KASTELIC J.P.; KNOPF L.; GINTHER O.J. Effect of day of prostaglandin F<sub>2</sub>  $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 23, n. 3, p. 169-80, 1990.

KESNER, J. S.; CONVEY, E. M.; ANDEERSOM, C. R. Evidence that estradiol induces the pre-ovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. **Endocrinology**, v. 108, p. 1386-91, 1981.

KNOPF L.; KASTELIC J.P.; SCHANLLENBERGER E.; GINTHER O.J. Ovarian follicular dynamics heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 6, p. 111-9, 1989.

LAMB, G.C. Sincronização do estro utilizando CIDR e GnRH. **VIII Curso Novos Enf. Na Prod. e Reprod. Bov.**, p. 215-224, Uberlândia, 2004.

LARSON, J.E.; LAMB, G.C.; GEARY, T.W.; STEVENSON, J.S.; MARSTON, T.W.; JOHNSON, S.K.; DAY, M.L.; KESLER, D.J.; DEJARNETTE, J.M.; LANDBLOM, D.G.; WHITTIER, D. Estrus synchronization of replacement beef heifers using GnRH, PGF2 $\alpha$  and Progesterone (CIDR): a multi-location study. p.37-41.2004 Minnesota Beef Cow/Calf Day Report. 2004b.

LAUDERDALE, J.W. Effects of PGF2 $\alpha$  on pregnancy and estrous cycle of cattle. **J. Anim. Sci.**, v.35,p.246,1972.(Abstract).

LOUIS, T.M.; HAFS, H.D.; MORROW, D.A. Estrus and ovulation after uterine prostaglandin F2 $\alpha$  in cows. **J. Anim. Sci.**, v.35,p.247, 1972. (Abstract).

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

MACMILLAN, K.L.; TAUFAN, V.K.; DAY, A.M. Combination treatments for synchronizing oestrus in dairy heifers. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995, p.35-45.

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. **J. Anim. Sci.**, v. 80, p.1746-1751, 2002b.

MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BÓ G.A.; CACCIA M.; MAPLETOFT R.J. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 86, p. 37-52, 2005.

MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P.; COOK, B.; OLSON, W.O.; MAPLETOFT R.J. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v.52, p.1049-1059, 2002a.

MIHM, M.; AUSTIN, E. J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Dom. Ani. Endocr.**, v. 23 , p.155–66, 2002.

MIHM, M.; DISKIN, M. G.; ROCHE, J. F. Regulation of follicular growth in cattle. **Reprod. Dom. Ani.**, v. 31 , p.531–8, 1996.

MIHM, M.; CROWE, M. A.; KNIGHT, P. G.; AUSTIN, E. J. Follicle wave growth in cattle. **Reprod. Dom. Ani.**, v. 37, p.191–200, 2002.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*bos indicus*), Angus (*bos taurus*) e Nelore x Angus.** São Paulo, 2003. 98f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

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

MUKASA-MUGERWA, E. **A review of reproductive performance of female *Bos indicus* (zebu) cattle.** Ethiopia: ILCA , 1989. p.1-34, (monograph,6). ILCA, Addis Abada, Ethiopia.

MURRAY, A.J.; CAVALIERI, J.; D'OCCHIO, M.J.; WHYTE, T.R.; MACLELLAN, L.J.; FITZPATRICK, L.A. Treatment with progesterone and 17 $\beta$ -oestradiol to induce emergence of a newly-recruited dominant ovulatory follicle during oestrus synchronization with long-term use of norgestomet in Brahman heifers. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 50, p. 16-26, 1998.

NOGUEIRA, G.P. Farmacologia do eixo hipotálamo-hipófise. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 362-382.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **J. Anim. Sci.**, v.68, p.817-30, 1990.

PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; VALLE, E.R.; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOVANI, C.R. Estrous behaviour and the estrus-two-ovulation interval in Nelore cattle (*bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F $_{2\alpha}$  or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-81, 1998.

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

PRATT, S.L.; SPITZER, J.C.; BURNS, G.L. Luteal function, estrous response, and pregnancy rate after treatment with Norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **J. Anim. Sci.** V.69, p.2721-6, 1991.

PRICE, C.A.; WEBB, R. Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers. **Endocrinology**, v. 122, p. 222-31,1998.

RAHE, C.H.; OWENS, R.E.; FLEEGER, J.L.; NEWTON, H.J.; HARMS, P.G. Patterns of luteinizing hormone in the cycling cow dependence upon period of the cycle. **Endocrinology**, v. 107, p. 498-503,1980.

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

ROBINSON, T.J.; SHELTON, J.N. Reproduction in cattle In: CUPPS, P.T. **Reprod. Domest. Anim.** 4 ed. San Diego: Academic Press, 1991, p.445-70.

ROWSON, L.E.A.; TERVIT, R.; BRAND, A. The use of prostaglandin for synchronization of oestrus in cattle. **J. Reprod. Fertil.**, v.29,p.145, 1972.

SANCHEZ, T.; WHERMAN, M.; BERGFELD, E. Progestin treatment to synchronize estrus when the corpus luteum is not present reduces conception rates in bovine females, **J. Anim. Sci.**, v.70, suppl.1, p.268, 1992.

SANTIAGO, A.A. **O zebu na Índia, no Brasil e no mundo.** Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, p.9-15, 1985.

SCHOENEMANN, H.M.; HUMPHREY, W.D.; CROWDER, M.E.; NETT, T.M.; REEVES, J.J. Pituitary luteinizing hormone releasing receptors in ovariectomized cows after challenger with ovarian steroids. **Biol. Reprod.**, v. 32, p. 574-83, 1985.

SHORT, R.E.; CARR, J.B.; GRAVES, N.W. Effect of clitoral stimulation and lengt of time an pregnancy rates in beef cattle. **J. Anim. Sci.**, v. 49,n. 3, p. 643-50, 1979.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Legthening of the bovine oestrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology**, v.127, p.915-25, 1990.

SKAGGS, C.L.B.; ABLE, B.V.; STEVENSON, J.S. Pulsatile or continuous infusion of luteinizing hormone-releasing hormone and hormonal concentrations in prepubertal beef heifers. **J. Anim. Sci.**, v. 62, p. 1034-1048, 1986.

SMITH, J.F.; KALTENBACH, C.C. Comparisons of techniques for synchronizations of oestrus and subsequent fertility in beef cattle. **N. Z. J. Agric. Res.**, v.33, p.449-57, 1990.

SMITH, J.F.; MCGOWAN, L.T. Oestrogen and the PRID **Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.**, v.42, p.87-9, 1982.

STEVENSON, J.S.; LAMB, G.C.; CARTMILL, J.A.; HENSLEY, B.A.; EL-ZARKOUNY, S.Z.; MARPLE, T.J. Synchronizing estrus in replacement beef heifers using GnRH, MGA, and pgf2 $\alpha$ . **J. Anim. Sci.**, v. 77 (suppl.1), p. 225, 1999.

STOCK, A. E.; FORTUNE, J. E. Ovarian Follicular Dominance in Cattle: Relationship between Prolonged Growth of the Ovulatory Follicle and Endocrine Parameters. **Endocrinology**, v.132, p.1108-1114, 1993.

STUMPF, T.T.; DAY, M.L.; WOLFE, M.W.; CLUTTER, A.C.; KITTOK, R.J.; KINDER, J.E. Effects os estradiol on secretion of luteinizing hormone during the follicular phase of the bovine estorus cycle. **Biol. Reprod.**, v. 41, p.91, 1989.

SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrus cycle of heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 101, n. 3, p. 547-55, 1994.

THATCHER, W.W.; BARTOLOME, J.A. Uso do protocolo Heatsynch para inseminação em tempo fixo (IATF) e ressincronização em vaca leiteiras em lactação. **VIII Curso Novos Enf. Na Prod. E Reprod. de Bov.**, p. 215-224, Uberlândia, 2004.

THATCHER, W.W.; BILBY, T.; GUZELOGLU, A.; STAPLES, C.R. Utilização de IATF como estratégia para aumentar a taxa de prenhez em vaca leiteiras em lactação. VIII Curso Novos Enf. Na Prod. E Reprod. de Bov., 2004, Uberlândia, **Anais.**,p. 215-224.

THOMPSON, K.E.; STEVENSON, J.S.; LAMB, G.C.; GRIEGER, D.M.; LÖEST, C.A. Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet, and PGF2 $\alpha$ . **J. Anim. Sci.**, v. 77, p. 1823-1832, 1999.

VACA, L.A.; GALINA, C.; FERNANDEZ BACA, S. Oestrus cycles, oestrus and ovulation of the zebu in the Mexican tropics. **Vet. Rec.**, v.117, p. 434-7, 1985.

WALTERS, D.L.; SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during periovulatory phases of the oestrous cycle in the cow. **J. Reprod. Fertil.**, v.71, p. 503-12, 1984.

WHITTAKER, P.R.; COLAZO, M. G.; MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R.J. New and used CIDR-B devices and estradiol benzoate, with or without progesterone, for fixed-time AI in beef heifers. **Theriogenology**, v.57, p.391 abstr., 2002.

WILTBANK, J.N.; GONZALEZ-PADILLA, E. Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen. **Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.**, v.15, p.255, 1975.

WISHART, D.F. Observations on the oestrous cycle of the Friesian Heifers. **Vet. Rec.** v.90, p.595-7, 1972.

WISHART, D.F.; YOUNG, I.M. artificial insemination of progestin (sc 21009) treated cattle at predetermined times. **Vet. Rec.** v.45, p.503, 1974.

WOOD, S.L.; JUCY, M.C.; SMITH, M.F.; PATTERSON, D.J. Improved synchrony of estrus and ovulation with the addition of GnRH to a MGA-PGF2 $\alpha$  synchronization treatment in beef heifers. **J. Anim. Sci.**, v. 79, p. 2210-2216, 2001.

WRIGHT, P.J.; MALMO, J. Pharmacologic manipulation of fertility. **Appl. Food Anim. Pract.**, v.8, p. 57-89, 1992.

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**LH, FSH levels and follicular development in Nelore heifers submitted to Fixed Time Artificial Insemination protocols with different progesterone concentration.**

**Autores:** Rafael Silva Cipriano, Beatriz Anselmo de Carvalho, Natalia Ribeiro Marangoni e Guilherme de Paula Nogueira.

**Instituição de origem:** Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, “Campus” de Araçatuba – Curso de Medicina Veterinária.

**Agradecimentos:** Tecnopec®, Fapesp e UNESP – Araçatuba.



## Resumo

Avaliou-se a secreção de LH e FSH de plasmático em novilhas durante a exposição à diferentes concentrações de progesterona (P4) e após a administração de GnRH ou benzoato de estradiol (BE). Nove novilhas Nelore, pré-sincronizadas com PgF2 $\alpha$ , em intervalo de 12 dias, foram submetidas a 6 protocolos com repetições casualizadas. Os 3 grupos de P4 foram: CL (Corpo Lúteo), IMPL+CL (DIB<sup>®</sup> e corpo lúteo) e IMPL (DIB<sup>®</sup>), e após a remoção da P4 estimuladas com GnRH ou BE. Durante a P4, foi coletado sangue a cada 12 h e nos dias 3, 4 e 5 a cada 15 min durante 6 h em 1 animal de cada grupo, depois da retirada dos implantes e/ou aplicação de PgF2 $\alpha$ , coletas foram realizadas a cada 3 h por 24 h (BE) ou a cada hora por 10 h (GnRH) para quantificação de LH e FSH. O exame ultrassonográfico foi realizado a cada 12 h e após o término das coletas de sangue às 24h e 48h. Às 12 h após colocação do implante, o grupo IMPL+CL apresentou menor concentração de LH que o grupo IMPL, após 36 h os grupos IMPL+C e IMPL apresentaram menor concentração de LH que o grupo CL e às 60 h o grupo IMPL apresentou menor secreção que o grupo CL. Após 24 h da colocação dos implantes, o grupo IMPL apresentou maior secreção de FSH que os demais grupos, e após 48 e 60 h o grupo IMPL+CL apresentou maior secreção de FSH que o grupo CL. No grupo IMPL, a amplitude máxima do pico de LH foi maior após o GnRH quando comparado com o BE. No grupo CL as novilhas apresentaram menor número de folículos ovarianos e maior diâmetro do maior folículo em relação aos grupos IMPL+CL e IMPL. Quando foi aplicado BE, o grupo IMPL+CL apresentou menor taxa de ovulação com 24 h que os grupos CL e IMPL. Os protocolos de sincronização da ovulação empregados foram eficientes em induzir um pico pré-ovulatório de LH em novilhas Nelore, independentemente da presença ou não de CL associado ao

implante de progesterona. O tratamento com GnRH induziu um pico de secreção de LH de maior amplitude e com melhor eficiência para estimular a ovulação em 24 h que o BE, em animais com excesso de progesterona. O excesso de progesterona interferiu na secreção de FSH, no desenvolvimento folicular e na ovulação.

**Unitermos:** Nelore, IATF, GnRH, benzoato de estradiol, gonadotrofinas.

### **Abstract**

The LH and FSH secretion and follicle profile was evaluated during exposition to different progesterone (P4) concentration and after GnRH or estradiol benzoate (BE) administration in Nelore heifers. Nine heifers were pré-synchronized with PGF<sub>2</sub>α (two injection with 12 days interval) received 6 treatments randomly repeated. There were 3 P4 groups: CL (corpus luteum), IMPL+CL (DIB<sup>®</sup> and CL) and IMPL (DIB<sup>®</sup>) that were stimulated with GnRH or BE after P4 removal. During P4 blood samples were collected every 12 h and on days 3, 4 and 5 every 15 min for 6 h from 1 animal per group, after P4 device removal, every 3 h for 24 h (BE) or every hour for 10 h (GnRH), for LH and FSH quantification. Ultrasound examination was realized every 12 h until the end of blood samples, and thereafter 24 and 48 h. At 12h after implant insertion the IMPL+CL group presented lower LH concentration than IMPL group, after 36 h the animals with implant presented lower LH concentration than CL group, and after 60 h the IMPL group had lower LH secretion than CL one. On IMPL group, the maximum LH peak amplitude was higher in animals that received GnRH compared to BE. Group with CL presented fewer follicles

and higher largest follicle diameter than IMPL+CL and IMPL. When BE was injected the IMPL+CL group presented lower ovulation rate at 24 h than CL and IMPL groups. The ovulation synchronization protocols used were efficient in promoting a preovulatory LH peak in Nelore heifers, independently of an associated CL or not to progesterone device. The GnRH treatment induced a higher LH peak amplitude and with an higher efficiency in stimulating ovulation in 24h than BE treatment, in animals with higher progesterone.. The progesterone excess interfered on FSH secretion, follicular development and ovulation.

**Unitermos:** Nelore, IATF, GnRH, estradiol benzoate, gonadotropins.

## 1. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético dos rebanhos de corte e de leite, baseado na seleção de indivíduos com maior rendimento de carcaça, maior produção leiteira e precocidade sexual, possibilitou o aumento da produção. No entanto, a multiplicação desse material genético só é possível com o emprego de técnicas reprodutivas eficientes e com o adequado manejo dos animais. A inseminação artificial (IA) é a técnica mais utilizada em todo o mundo para multiplicar e acelerar o ganho genético dos rebanhos <sup>1</sup>, mas seu emprego ainda tem limitações, decorrentes da detecção de estro, do momento da realização da inseminação, principalmente no gado zebu.

Uma alternativa para resolver o problema de detecção do estro é a utilização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Os protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) permitem aos criadores inseminarem as vacas sem a observação de estro. Estes esforços devem otimizar o uso do tempo, da mão-de-obra e dos recursos financeiros, permitindo que mais animais emprenhem com a inseminação artificial <sup>2</sup>. Os

tratamentos hormonais visando sincronizar o estro e a ovulação tem sido empregados com sucesso em fêmeas européias.

O objetivo de um programa de sincronização é o controle do momento da ovulação, que possibilite a IATF sem detecção do cio. Porém, isso precisa estar aliado a altos índices de ovulação sincronizadas <sup>3</sup>.

Ao final do protocolo de sincronização para IATF, almeja-se a ocorrência de um pico pré-ovulatório de LH, que induza a ovulação na maioria dos animais. O FSH tem papel fundamental no desenvolvimento folicular, por isso estudar as características de sua secreção se torna importante para o resultado final de um protocolo de IATF.

O presente trabalho teve o objetivo de verificar as características da secreção de LH e FSH (amplitude e frequência de pulsos) durante o período de exposição à progesterona endógena e/ou exógena e o padrão de secreção de LH e FSH, o desenvolvimento folicular e a ovulação após a administração de lecirelina ou BE em novilhas Nelore.

Partiu-se da hipótese de que o excesso de progesterona em novilhas com CL associado ao implante interfere na secreção de FSH, deprime a concentração de LH compromete o desenvolvimento folicular após a retirada do implante, dificulta o pico de LH e que a estimulação com lecirelina (GnRH) ou BE induz um pico pré-ovulatório de LH e ovulação após a retirada dos implantes.

## **2. MATERIAL E MÉTODO**

### **2.1 Animais**

Foram utilizadas 9 novilhas Nelores com 24 meses de idade, nascidas em intervalos próximos (máximo de 30 dias de diferença) com peso médio de  $490 \pm 8,7$  Kg. As novilhas permaneceram em piquetes nas dependências do Curso de Medicina Veterinária, Campus

de Araçatuba e receberam diariamente suplementação com ração e bagaço de cana hidrolisado, tendo acesso livre a pasto de capim Tanzânia, sal mineral e água. Antes de se iniciar a coleta de sangue, os animais foram treinados e acostumados a permanecer no tronco de contenção. Os animais foram divididos em grupos com 3 animais cada e submetidos a 6 variações, com isso todos os animais passaram pelos 6 diferentes protocolos de tratamento hormonal em arranjo fatorial ( $3 \times 2$ ), com intervalo de 24 dias entre eles (Quadro 1).

Todas as novilhas foram avaliadas por palpação retal e ultrassonografia no início do tratamento para verificar se estavam cíclicas.

## **2.2 Tratamentos hormonais**

Todos os animais foram pré-sincronizados com aplicação de  $\text{PgF2}\alpha$  (150  $\mu\text{g}$  D-cloprostenol, Prolise®, IM, Quadro 2), 12 dias depois, foi aplicada uma segunda dose de  $\text{PgF2}\alpha$ , e 12 dias depois foi considerado o dia 0 para o começo dos protocolos, o que equivale ao 8º dia do ciclo estral aproximadamente (Fig. 1), entre cada protocolo houve um intervalo de 24 dias: aplicou-se 150  $\mu\text{g}$  de  $\text{PgF2}\alpha$ , após 12 dias desta aplicação reiniciaram-se os protocolos (Quadro 2). Foi utilizado como fonte de P4 exógena, dispositivos intravaginais bovinos da Syntex® (DIB®), contendo 1 g de progesterona.

## **2.3 Amostras de sangue e ensaios hormonais**

Durante o período em que as novilhas estiveram com o implante de progesterona e/ou corpo lúteo, as coletas de amostras de sangue da jugular ocorreram a cada 12 h até a remoção dos implantes e após administração da lecirelina foram realizadas coletas a cada

hora durante 10 h; nas novilhas tratadas com BE as amostras de sangue foram coletadas a cada 3 h por 24 h. A retirada dos implantes e aplicação de PgF2 $\alpha$  ocorreu às 204 h e foi coletada mais uma amostra de sangue às 216 h.

Para a coleta seriada (a cada 15 min por 6h) nos dias 3, 4 e 5 dos protocolos, as novilhas foram canuladas na jugular (no dia anterior), para a menor interferência no bem-estar dos animais. No dia da coleta os animais canulados foram levados ao curral e contidos por um cabresto com acesso a volumoso e água á vontade. Cada animal foi identificado por um brinco numerado, bem como os tubos contendo EDTA (10%), as seringas utilizadas para coleta e aplicação de solução anticoagulante.

#### **2.4 Acompanhamento ultra-sonográfico**

Os animais foram avaliados por palpação retal e exame ultra-sonográfico via transretal (GE Logic 100, 5 MHz) de 12 em 12 h do início até o término das coletas de sangue, continuando por 24 e 48 h após as coletas para verificação da ovulação. Para os dados diários de folículos foram considerados: diâmetro do maior folículo, diâmetro do segundo maior folículo e número total de folículos e o período estimado da ovulação.

#### **2.5 Ensaio de gonadotrofinas**

Os ensaios para quantificação do LH e do FSH bovino foram adaptados dos descritos por BOLT et al., <sup>4</sup> e BOLT e ROLLINS, <sup>5</sup> realizados no Laboratório de Endocrinologia Animal da Unesp de Araçatuba. O coeficiente de variação intra-ensaio do LH foi de 10,03% para o controle alto (13,43 ng/ml) e de 2,3% para o controle baixo (0,66 ng/ml); o CV inter-ensaio foi de 12,58% para o controle alto e 8,41% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios de LH foi de 0,050 ng/ml. Para o FSH, o CV intra-ensaio foi

de 3,45% para o controle alto (1,30 ng/ml) e de 3,27% para o controle baixo (0,85 ng/ml); o CV inter-ensaio foi de 8,86% para o controle alto e 13,37% para o controle baixo e a sensibilidade dos ensaios de FSH foi de 0,022 ng/ml. Os ensaios para quantificação da P4 bovina foram realizados por RIA de todos os animais nos dias 0, 3 (72h) e 5 (120h), e de um animal de cada grupo no dia 7 (168h) com kit comercial Coat-a-Count® da DPC, o CV intraensaio foi de 5,84% para o controle alto (40 ng/ml) e para o controle baixo 0,39% (0,20 ng/ml), e a sensibilidade do ensaio foi de 0,05 ng/ml.

## 2.6 Análise estatística

Os dados da concentração de gonadotrofinas foram transformados em logaritmos ( $\text{Log}(x+1)$ ) quando não passaram nos testes de normalidade e homogeneidade de variância dos resíduos. Utilizando-se o programa GrafPad Prism versão 3.00 for Windows foi calculada a área total do pico de secreção de LH e FSH, amplitude máxima, o tempo para o primeiro pico, o número de picos e a área de secreção total de LH e FSH, para comparação entre os grupos. Utilizou-se o teste de análise de variâncias (ANOVA) para medidas repetidas utilizando como pós-teste o teste de Tukey para comparação de médias do programa SAS® (Statistical Analysis System, 1998). Para a análise da taxa de ovulação foi utilizado o teste  $X^2$  e como pós-teste o teste exato de Fisher. Para análise dos dados de folículos foi utilizado programa GraphPad InStat versão for Windows e foram submetidas à análise de variância, sendo comparadas através do teste não paramétrico de Kruskal-wallis e como pós teste o teste de Dunn's. Os resultados são apresentados como média  $\pm$  SD dos dados originais e medianas  $\pm$  SD dos dados foliculares, considerando o nível de significância de 5% ( $P < 0,05$ ).

Os resultados da concentração de FSH, LH e progesterona dos animais tratados

com lecirelina ou BE, nos períodos em que estavam com implante de P4 e/ou CL foram agrupados (coletas a cada 12 h, do dia 0 ao dia 8), uma vez que a diferença entre os tratamentos aconteceu após a retirada dos implantes. Como houve interação significativa entre grupo e intervalo ( $p=0,0003$ ) nas concentrações de LH e FSH foi comparado os grupos dentro de cada intervalo (Tabelas 2 e 3).

As amostras colhidas em intervalos de 15 em 15 min durante 6 h, dos grupos BE e lecirelina foram agrupadas e a análise estatística foi realizadas nos dias 3, 4 e 5 separadamente.

Foram excluídos sete repetições dos animais que receberam BE e não apresentaram um pico completo de LH e FSH (elevação e queda), devido a impossibilidade de comparação das áreas de secreção dos picos entre os 3 grupos de diferentes concentrações de progesterona, independente da ovulação, sendo que a maioria desses animais ovulou após 24 h.

## **2.7 Resultados e discussão**

Cinco animais apresentaram cisto folicular ovariano em um dos períodos de tratamento hormonal e suas repetições foram excluídas das análises.

O grupo IMPL+CL apresentou maior concentração média de progesterona ( $4,79\pm 1,68$  ng/ml;  $p<0,05$ ) que o grupo CL ( $3,44\pm 1,27$  ng/ml) com concentração intermediária e que o grupo IMPL ( $2,41\pm 1,53$  ng/ml) que apresentou menor concentração de progesterona (Tabela 1), o mesmo aconteceu quando foram comparados os grupos nos intervalos de 72, 120 e 168 h, porém não houve diferença na concentração de progesterona entre os grupos no intervalo de 0 h, uma vez que todos os animais possuíam CL antes da inserção dos implantes.



Após 12 h da colocação do implante, os animais do grupo IMPL+CL apresentaram concentração de LH menor (0,40 ng/ml,  $P<0,05$ ) que o grupo IMPL (0,98 ng/ml, Tabela 2). Com 36 h o grupo CL apresentou maior concentração de LH (0,56 ng/ml,  $P<0,05$ ) que os demais grupos com implantes e que o grupo IMPL com 60 h. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na concentração de LH entre os grupos CL, IMPL+CL e IMPL nos demais intervalos. O grupo IMPL apresentou menor secreção de LH somente nas primeiras 36 e 60 h após colocação do implante, lembrando que este grupo recebeu uma dose de BE na colocação do implante.

O presente trabalho buscou avaliar uma possível situação que seria a associação de um implante de progesterona à presença de CL uma vez que nos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo, não há avaliação prévia dos animais antes da inserção dos implantes de P4 para verificar se possuem CL funcionante ou não. Nas primeiras 60 h a falta de LH provavelmente não interferiu na emergência da onda, nem no desenvolvimento folicular (Tabela 2), uma vez que nessa fase os folículos dependem mais do FSH que do LH para o crescimento. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) no número de folículos entre os grupos dentro de cada intervalo nas primeiras 60 horas. O grupo CL apresentou maior diâmetro do maior folículo no momentos 0 e 12 h ( $10,00\pm 1,62$  e  $9,57\pm 1,50$  mm,  $P<0,05$ ) que os demais grupos e com 24 e 36 h foi maior ( $9,35\pm 1,69$  e  $9,21\pm 1,72$  mm,  $P<0,05$ ) que o grupo IMPL+CL.

Após 24 h da colocação do implante, os animais do grupo IMPL possuíam menor concentração de FSH ( $0,30\pm 0,07$  ng/ml,  $P<0,05$ ) que os grupos CL e IMPL+CL ( $0,38\pm 0,11$  e  $0,43\pm 0,06$  ng/ml) (Tabela 3). Esse resultado pode ter ocorrido, pois o grupo IMPL recebeu uma dose de BE junto com o implante. Foi demonstrado que a associação do estradiol com a progesterona deprime a secreção de FSH<sup>6</sup>, o que provoca a emergência de

uma onda folicular em 4 dias <sup>7 e 8</sup>. Como BE foi administrado somente no grupo IMPL, neste pode ter ocorrido uma melhor sincronização da emergência da onda folicular.

Com 48 e 60 h, o grupo IMPL+CL possuía maior concentração de FSH (0,44±0,14 ng/ml) que o grupo CL (0,42±0,08 ng/ml, P<0,05). Não houve diferença (P>0,05) na concentração de FSH entre os grupos CL, IMPL+CL e IMPL nos demais intervalos (Tabela 3). Como o grupo IMPL+CL possuía maior concentração de FSH, esperávamos uma interferência na dinâmica folicular, uma vez que no momento da emergência da onda o crescimento dos folículos depende do FSH, que é responsável pelo recrutamento durante o ciclo estral. Várias publicações relatam um aumento de FSH plasmático, entre 1 e 2 dias antes do início de cada onda foliculares <sup>9, 10, 11, 12, 13, 14 e 15</sup>, por outro lado a diminuição na concentração do FSH é essencial para a seleção do folículo dominante <sup>16, 17, 18 e 19</sup>. Da mesma forma o trabalho conduzido por BO et al., <sup>20</sup>, mostrou que inicialmente ocorre uma supressão e posteriormente um aumento na secreção de FSH, quando o estradiol foi associado a um progestágeno em vacas. Nas novilhas Nelore foi possível observar a supressão (após 24 h) e o aumento na concentração de FSH no grupo IMPL aconteceu após 60 h da aplicação do BE.

No grupo IMPL, como era esperado, a associação de progesterona com BE diminuiu na secreção de LH às 60 h e a secreção de FSH após 24 h nas amostras colhidas a cada 12 h (Tabelas 2 e 3), resultados semelhantes foram encontrados em *Bos taurus* <sup>21 e 22</sup>, A associação de P4 com estradiol suprimiu a secreção de LH em vacas Holandesas <sup>23</sup>, em novilhas Brahma <sup>24</sup>, causou regressão em folículos dependentes de LH, e sincronizou a emergência de uma nova onda em vacas Hereford <sup>8</sup> e Holandesas <sup>25</sup>, também foi notado um menor intervalo entre a emergência de uma nova onda folicular e a ovulação e uma redução do diâmetro do folículo ovulatório.

Quanto ao padrão de secreção de LH e FSH (das amostras colhidas a cada 15 min) no período em que as novilhas estavam com o implante e/ou CL, não houve diferença ( $P>0,05$ ) na área total do pico, na área total de secreção, na amplitude máxima dos picos, na área do maior pico e no número de picos de secreção de LH e FSH entre os 3 grupos no D 3, D 4 e D 5 (Fig. 2 e 3).

A falta de diferença entre os grupos quanto ao padrão de secreção de gonadotrofinas também foi relatada por outros pesquisadores. MACKEY et. al.,<sup>26</sup> mostraram que a associação de P4 com o estradiol não interferiu na frequência e amplitude dos pulsos de secreção de LH em vacas em anestro pós-parto isoladas dos bezerros. Por outro lado BRIDGES; FORTUNE,<sup>27</sup> relataram um aumento na frequência dos pulsos de LH em novilhas que receberam implante de P4 na fase folicular em comparação com a fase luteal .

O grupo CL apresentou menos folículos ( $7,93\pm 0,10$ ;  $p<0,05$ ) se comparado aos grupos IMPL ( $8,60\pm 0,11$ ) e IMPL+CL ( $8,50\pm 0,10$ ). Por outro lado o grupo CL apresentou elevado diâmetro do maior folículo ( $9,90\pm 0,13$ mm;  $p>0,05$ ) quando comparado aos outros dois grupos IMPL ( $9,34\pm 0,13$ mm) e IMPL+CL ( $8,64\pm 0,09$ mm) sendo que este apresentou os menores diâmetros. As novilhas IMPL apresentaram o menor diâmetro do 2º maior folículo ( $5,25\pm 0,10$ mm) que as novilhas do grupo CL ( $5,57\pm 0,12$ mm), o grupo IMPL+CL ( $5,42\pm 0,07$ mm) apresentou diâmetro intermediário (Tabela 5).

No grupo sem implante (CL) as novilhas apresentaram menor número de folículos ovarianos e o maior diâmetro do maior folículo em relação aos grupos com implante (IMPL+CL, IMPL). Apesar de relatos mostrarem que baixas concentrações de progesterona favorecem um aumento na frequência dos pulsos de LH<sup>28 e 29</sup> que estimulam o folículo dominante a crescer não foi possível mostrar aumento na frequência de pulsos de LH nas novilhas com IMPL e menor concentração de P4. Como o folículo dominante foi menor nas

novilhas com IMPL+CL, isso possibilitou o aparecimento de um número maior de folículos subordinados, influenciados por uma maior secreção de FSH (Tabela 3 e 5) devido a alta concentração de progesterona neste grupo. Altas concentrações de FSH são necessárias para iniciar a emergência da onda folicular<sup>15, 30 e 16</sup>, baixas concentrações asseguram o crescimento de um único folículo dominante selecionado, impedindo o desenvolvimento de uma nova onda folicular<sup>31</sup>. A associação de BE e uma dose adicional P4 junto da colocação do implante provocam menor variação no momento da emergência de uma nova onda (quando comparado com animais sem progesterona), porém não aumentam a taxa de prenhez<sup>32, 33 e 34</sup>.

Após a retirada dos implantes e/ou aplicação de PGF2 $\alpha$  e aplicação de lecirelina (GnRH) ou BE, notamos que não houve diferença ( $P>0,05$ ) na área total, na área total do pico, na amplitude máxima dos picos, e no tempo para o 1º pico de secreção de LH e FSH entre os 3 grupos, CL, IMPL+CL e IMPL (Tabela 4 e Figuras 2 e 3).

Os níveis basais de LH agem em conjunto com o FSH para induzir a produção de esteróides pelo folículo dominante. A onda pré-ovulatória de LH, responsável pela ruptura da parede folicular e da ovulação, inicia-se por um aumento na concentração de estrógenos circulantes, que apresenta um efeito positivo sobre o hipotálamo, induzindo a liberação de GnRH, aumentando a concentração de LH e FSH<sup>35</sup>. Uma onda de FSH foi verificada associada à liberação do pico pré-ovulatório de LH<sup>36, 15, 37, 16 e 17</sup>.

O tratamento com a lecirelina (GnRH) ou BE foi eficaz em induzir o pico de LH nos três grupos previamente expostos à diferentes quantidades de P4. Foi demonstrado<sup>38, 7 e 39</sup>, que tanto o GnRH quanto o estradiol podem ser usados com sucesso para induzir o pico pré-ovulatório de LH. No entanto há diferença na resposta à progesterona exógena entre vacas e novilhas, enquanto o excesso de P4 (2 implantes), não interferiu na secreção de LH

em novilhas, diminuiu a secreção de LH em vacas, mesmo após administração de GnRH, mostrando diferente resposta em função da idade e status reprodutivo. Como consequência a resposta ovulatória foi maior nas novilhas com menor concentração de P4, mostrando que a quantidade excessiva de P4 interferiu no desenvolvimento folicular<sup>40</sup>. Resultados semelhantes STOCK; FORTUNE,<sup>29</sup> obtiveram utilizando dois implantes de progesterona e na maioria das vacas com altas concentrações de P4 (6 ng/ml), notaram que houve interferência no desenvolvimento folicular, atraso no pico de LH para 82,6 h após retirada dos implantes e conseqüentemente na ovulação.

A exposição prévia das novilhas Nelore à diferentes concentrações de P4 não interferiu na secreção de LH e FSH em resposta a aplicação da lecirelina (GnRH), ou BE (Tabela 4 e Figuras 4 e 5).

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na área total de secreção de LH e na área total do pico de secreção de LH entre o BE e o GnRH, dentro dos grupos. No entanto houve diferença na resposta de secreção de LH entre as novilhas do Grupo IMPL GnRH, elas apresentaram maior ( $P<0,05$ ) amplitude máxima dos picos de secreção de LH que os animais do mesmo grupo que receberam BE. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na amplitude máxima dos picos entre o BE e o GnRH, dentro do Grupo CL e IMPL+CL (Tabela 4). A maior amplitude do pico de LH no grupo somente com implante que recebeu a lecirelina (GnRH) aconteceu provavelmente pela exposição prévia à progesterona exógena e aplicação de BE no momento da inserção do implante provocando o armazenamento de LH pelos gonadotrofos, permitindo uma maior resposta ao GnRH após a remoção dos implantes ou pelo aumento da resposta dos gonadotrofos ao GnRH, consequência de um maior número de receptores. A supressão da secreção de LH pela progesterona aumenta o armazenamento de LH na hipófise que pode ser liberado após a retirada do efeito

supressivo da progesterona sobre a secreção de GnRH<sup>41</sup>. O estradiol aumenta a frequência de pulsos de GnRH, e através da circulação hipotalâmico-hipofisária, os pulsos plasmáticos de LH. A elevação na concentração de GnRH decorrente da estimulação pelo estradiol também é responsável pelo aumento no número de receptores para GnRH nos gonadotrofos, aumentando a resposta da hipófise ao estímulo hipotalâmico<sup>42</sup>. O GnRH é sintetizado por neurônios hipotalâmicos e após ser liberado sob a forma de pulsos<sup>43</sup> atinge a adenohipófise através do sistema porta-hipotálamo-hipófise, onde determina a produção e secreção de LH e FSH, os quais induzem a produção e secreção dos esteróides gonadais. Durante a fase folicular e luteínica do ciclo estral, ocorrem aumentos na concentração plasmática de FSH (ondas de FSH) em intervalos periódicos de aproximadamente, 21 a 33 horas<sup>44</sup>. A administração de estradiol induz a liberação de LH, quando os níveis de P4 circulante estão baixos e causa atraso da emergência da onda folicular seguinte<sup>21</sup>. Provavelmente, no grupo com implante, a P4+BE fez com que os gonadotrofos armazenassem mais grânulos de LH, e após a retirada dos implantes, resultou uma maior amplitude do pico de secreção de LH com a aplicação da lecirelina. Normalmente, um aumento na concentração de estradiol endógeno em bovinos estimula o aumento dos pulsos de GnRH, promovendo pico pré-ovulatório de LH na hipófise anterior, quando as concentrações de progesterona são basais<sup>45</sup>.

Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na área total, na área total do pico e na amplitude máxima dos picos de secreção de FSH entre as novilhas que receberam GnRH e BE, dentro de cada grupo.

Na avaliação ultra-sonográfica às 24 e 48 h após o término das coletas (204 h), o grupo IMPL+CL apresentou menor taxa de ovulação com 24 horas (39%,  $P<0,05$ ) que os grupos CL (77%) e IMPL (89%) (Tab.6). Quando comparamos os grupos dentro de cada

hormônio indutor da ovulação (GnRH ou BE), não houve diferença ( $P>0,05$ ) na taxa de ovulação entre os grupos que receberam GnRH. Quando foi aplicado BE, o grupo IMPL+CL apresentou menor taxa de ovulação com 24 horas (11%,  $P<0,05$ ) que os grupos CL (67%) e IMPL (78%). Quando comparamos os efeitos dos hormônios indutores da ovulação dentro de cada grupo, os efeitos foram os mesmos. Não houve diferença ( $P>0,05$ ) na taxa de ovulação com 24 h entre os animais que receberam GnRH ou BE dentro de cada grupo (CL ou IMPL) (Tab.6). A baixa taxa de ovulação em animais com excesso de progesterona (IMPL+CL) e que receberam BE aconteceu provavelmente pela alta concentração de FSH que este grupo apresentou nas primeiras 60 horas após a colocação dos implantes, diminuindo o tamanho do folículo ovulatório, além de uma demorada (menor) resposta dos gonadotrofos a aplicação de BE. Resultado semelhante obtido por COLAZO et al.,<sup>39</sup> em que a resposta ovulatória foi maior nas novilhas com menor concentração de P4, mostrando que a quantidade excessiva de P4 interferiu no desenvolvimento folicular.

Pode-se concluir que os protocolos de sincronização da ovulação empregados foram eficientes em induzir um pico pré-ovulatório de LH em novilhas Nelore, independente de terem recebido implante associado ao CL ou não e que o excesso de progesterona (associação de implante mais corpo lúteo), prejudicando a resposta dos hormônios indutores de ovulação em novilhas Nelore.

A utilização dos protocolos de sincronização da ovulação para inseminação em tempo fixo pode ser realizada sem avaliação prévia dos animais para verificação da presença de CL desde que se utilize a lecirelina (GnRH) como indutor da ovulação.

## **REFERÊNCIAS**

1. BO, G.A.; CUTAIA, L.; BROGLIATTI, G.M. Programas de inseminacion artificial a tempo fijo em ganado bovino utilizando progestagenos y estradiol. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL, IRAC, 2001, Cordoba. **Annales...** p. 117-136.
2. LAMB, G.C. Sincronização do estro utilizando CIDR e GnRH. In: Curso novos enfoques na produção e reprodução de Bovinos., 8., 2004, Uberlândia, **Anais...** Uberlândia, 2004. p. 215-224.
3. THATCHER, W.W.; BILBY, T.; GUZELOGLU, A.; STAPLES, C.R. Utilização de IATF como estratégia para aumentar a taxa de prenhez em vaca leiteiras em lactação. In: Curso novos enfoques na produção e reprodução de Bovinos, 8., 2004, Uberlândia, **Anais...** Uberlândia , 2004. p. 215-224.
4. BOLT, D. J.; ROLLINS, R. Development and application of a radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone. *J. Anim. Sci.*, v. 56, p. 146-154, 1983.
5. BOLT, D. J.; SCOTT, V.; KIRACOFE, G. H. Plasma LH and FSH after estradiol. norgestomet and Gn-RH treatment in ovariectomized beef heifers. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 23, p. 263-271, 1990.
6. BO, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.31-40, 1995b.
7. MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P.; COOK, B.; OLSON, W.O.; MAPLETOFT R.J. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v.52, p.1049-1059, 2002.



8. MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BÓ G.A.; CACCIA M.; MAPLETOFT R.J. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 86, p. 37-52, 2005.
9. GONG, J.G.; CAMPBELL, B.K.; BRAMLEY, T.A.; GUTERREZ, C.G.; PETERS, A.R.; WEBB, R. Suppression in the secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin-releasing hormone agonist. **Biol. Reprod.**, v. 55, p. 68-74, 1996.
10. GINTHER O.J.; WILTBANK M.C.; FRICKE P.M.; GIBBONS J.R.; KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol. Reprod.**, v.55, p. 1187-1194, 1996.
11. GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; PETERS, A.R.; WEBB, R. Effects of chronic treatment with a potent gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, V. 105, p. 263-70, 1995.
12. SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrus cycle of heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 101, n. 3, p. 547-55, 1994.
13. HAMILTON, S.A.; XU, Z.Z.; KIEBORZ, K.R.; YONGQUIST, R.S.; GARVERICK, H.A. Relationship between ovarian follicular dynamics and follicle-stimulating hormone levels during the bovine estrous cycle. **J. Anim. Sci.**, v.70, p.261-23, suppl.1,1992.
14. 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. **J. Reprod. Fertil.**, v.95, n.2 p. 627-40, 1992b.
15. ADAMS,G.P; MATTERI, R.L; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H. Association between surges of follicle stimulating and the emergence of follicular waves in heifers. **J. Reprod.**

**Fertil.**, v.94, n.1, p. 177-88, 1992a.

16. MIHM, M.; AUSTIN, E. J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 23 , p.155–66, 2002.

17. MIHM, M.; CROWE, M. A.; KNIGHT, P. G.; AUSTIN, E. J. Follicle wave growth in cattle. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 37 , p.191–200, 2002.

18. 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. 1079-93, 1999.

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

20. BO, G.A.; COLAZO, M. G.; MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R.J. Sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados con progestagenos y diferentes esteres de estradiol. IN: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2 , 2006, Londrina. **Anais...** São Paulo: USP, 2006. p. 71-84.

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

22. BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.F.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with estradiol in cattle. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 39, p. 193-204, 1995a.

23. BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L.; BOLAND, M.P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 45, p. 13-28, 1996.
24. MURRAY, A.J.; CAVALIERI, J.; D'OCCHIO, M.J.; WHYTE, T.R.; MACLELLAN, L.J.; FITZPATRICK, L.A. Treatment with progesterone and 17 $\beta$ -oestradiol to induce emergence of a newly-recruited dominant ovulatory follicle during oestrus synchronization with long-term use of norgestomet in Brahman heifers. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 50, p. 16-26, 1998.
25. 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 hormonal concentrations in Holstein cows. **Anim. Reprod. Sci.**, v.76, p.177-193, 2003.
26. MACKEY, D. R.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F.; DISKIN, M. G. The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. **J. Anim. Sci.** v.78, p.1917-1929, 2000.
27. BRIDGES, P.J.; FORTUNE, J.E. Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v.25, p.199-214, 2003.
28. IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: ROCHE, J. F., O'CALLAGHAN, D. **Follicular growth and ovulation rate in farm animals**. Boston: Martinus Nijhoff, 1987. p. 1-18.
29. STOCK, A. E.; FORTUNE, J. E. Ovarian Follicular Dominance in Cattle: Relationship between Prolonged Growth of the Ovulatory Follicle and Endocrine Parameters. **Endocrinology**, v.132, p.1108-1114, 1993.

30. MIHM, M.; DISKIN, M. G.; ROCHE, J. F. Regulation of follicular growth in cattle. **Reprod. Domest. Anim.**, v. 31 , p.531–8, 1996.
31. KASTELIC J.P.; KNOPF L.; GINTHER O.J. Effect of day of prostaglandin f 2  $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 23, n. 3, p. 169-80, 1990.
32. MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, M.L.; ORTISI, F.; BO, G.A. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408 abstr., 2001.
33. BO, G.A.; BERGFELT, D.R.; BROGLIATTI, G.M.; PIERSON, R.A.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 $\beta$  on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. **Ani. Reprod. Sci.**, v. 59, p. 141-157, 2000.
34. WHITTAKER, P.R.; COLAZO, M. G.; MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R.J. New and used CIDR-B devices and estradiol benzoate, with or without progesterone, for fixed-time AI in beef heifers. **Theriogenology**, v.57, p.391 abstr., 2002.
35. HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in farm animal**. 6. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.p.573.
36. KANEKO, H.; TERADA. T., TAYA, K.; WATWNABE, G.; SASAMOTO, S.; HASEGAWAY, Y.; IGARASHI, M. Ovarian follicular dynamics and concentrations of oestradiol-17  $\beta$ , progesterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. **Reprod. Fertil. Develop.**, v. 3, p. 529-35, 1991.
37. CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; ENTWISTLE, K.W.; FITZPATRICK, L.A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, n. 4, p. 801-14, 1997.

38. COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R.J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v.60, p.855-865, 2003.
39. COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P.R.; GAVAGA, Q.A.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R.J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Anim. Reprod. Sci.**, v. 81, p. 25-34, 2004.
40. COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; DAVIS, H.; RUTLEDGE, M. D.; MARTINEZ, M. F.; SMALL, J. A.; MAPLETOFT, R. J. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domest. Anim. Endocrinol.**, 2007. Disponível em: ([http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/dae.](http://www.journals.elsevierhealth.com/periodicals/dae)) Acesso em: 3 Abril 2007.
41. HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrous cycle. **J. Anim. Sci.**, v.57, p.404-424, suppl.,1983.
42. NOGUEIRA, G.P. Farmacologia do eixo hipotálamo-hipófise. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 2006. p. 362-382.
43. CLARKE, J.J. GnRH secretion. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION, 5, Dublin. **Anais...** 1988. p. 1-9.
44. BERGFELT, D.R.; SMITH, C.A.; ADAMS, G.P.; GINTHER, O.J. Surges of FSH during the follicular and early luteal phases of the estrous cycle in heifers. **Theriogenology**, v. 48, p.757-68, 1997.
45. JOHNSON, A. D.; ULBERG, L. C. Influence of exogenous progesterone on follicular cysts in dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v. 50, p.758-761, 1967.

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

	GnRH			BENZOATO DE ESTRADIOL		
<b>1) CORPO LÚTEO</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>2) C/ IMPLANTE C/ CORPO LÚTEO</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>A</b>
<b>3) C/ IMPLANTE S/ CORPO LÚTEO</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>B</b>

Grupos dos animais: G A (Brincos: 143, 171, 123)

G B (Brincos: 124, 181, 144)

G C (Brincos: 187, 186, 182)

**Quadro 1** - Distribuição de 9 novilhas Nelore, 3 por grupo em repetições aleatórias em todos os tratamentos: CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®).

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

1º) <b>PgF2α</b> -- 12 dias -- <b>PgF2α</b> -- 12dias -- <b>Implante</b> D0 -- 8 dias -- <b>PgF2α</b> D8 -- <b>BE</b> D9 -- D10
2º) <b>PgF2α</b> D10 -- 12 dias -- <b>PgF2α</b> D22 -- 12dias -- <b>Implante</b> D34 -- 8 dias -- <b>PgF2α</b> D42 -- <b>GnRH</b> D44 -- D45
3º) <b>PgF2α</b> D45 -- 12 dias -- <b>PgF2α</b> D57 -- 12dias -- <b>Implante</b> D69 -- 8 dias -- <b>PgF2α</b> D77 -- <b>BE</b> D78 -- D79
4º) <b>PgF2α</b> D79 -- 12 dias -- <b>PgF2α</b> D91 -- 12dias -- <b>Implante</b> D103 -- 8 dias -- <b>PgF2α</b> D111 -- <b>GnRH</b> D113 -- D114
5º) <b>PgF2α</b> D114 -- 12 dias -- <b>PgF2α</b> D126 -- 12dias -- <b>Implante</b> D138 -- 8 dias -- <b>PgF2α</b> D146 -- <b>BE</b> D147 - D148
6º) <b>PgF2α</b> D148 -- 12 dias -- <b>PgF2α</b> D160 -- 12dias -- <b>Implante</b> D172 -- 8 dias -- <b>PgF2α</b> D180 -- <b>GnRH</b> D182 -D183

**D0, D34, D69, D103, D138, D172:** Consideramos como D0 (dia da inserção do implante e/ou CL com 8 dias).

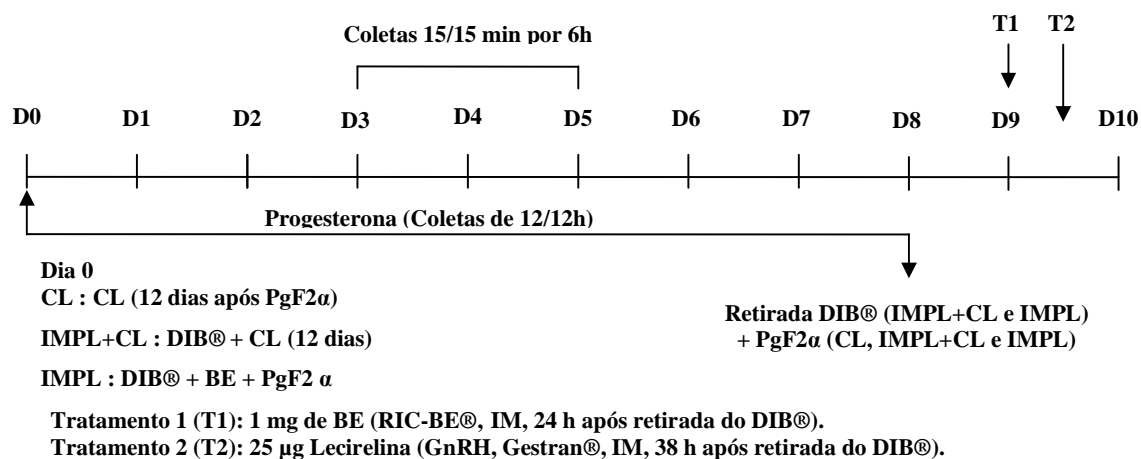
**D8, D42, D77, D111, D146, D180:** 2ª Aplicação de PgF2α e retirada do implante (DIB® dos grupos IMPL+CL e IMPL).

**D9, D78, D147:** Aplicação de benzoato de estradiol (RIC-BE®, 1mg).

**D44, D113, D182:** Aplicação de GnRH (Gestran®, 10µg de licerelina).

**Quadro 2** - Seqüência da execução dos protocolos em função do tempo (dias) em grupos de novilhas Nelore (n=9), expostas a diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2α (DIB®), no momento da retirada (D8) e inserção (D0) dos implantes, aplicação de PgF2α (D8) e aplicação de lecorelina (GnRH), ou BE. Aplicação de PgF2α em intervalos de 12 dias entre os protocolos (Araçatuba, 2007).

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**



**Figura 1** - Esquema dos protocolos de sincronização da ovulação, das coletas seriadas, em grupos de novilhas Nelore (n=9), expostas a diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2α (DIB®), do momento inserção (D0) e da retirada (D8) dos implantes, aplicação de PGF2α (D8) e aplicação de lecirelina (GnRH, T2), ou BE (T1) (Araçatuba, 2007).



**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Tabela 1** - Concentração de progesterona (ng/ml) em novilhas Nelore n=9, divididas em 3 grupos: CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+PgF2α (DIB®), amostras colhidas nos intervalos com 0, 72 e 120 horas (n=9) e 168 horas (n=3) (Araçatuba, 2007).

<b>Momento (horas)</b>	<b>Dias estimados do ciclo</b>	<b>Grupo CL</b>	<b>Grupo IMPL+ CL</b>	<b>Grupo IMPL+BE</b>
<b>0</b>	<b>8</b>	3,04±1,16 <sup>bA</sup>	3,58±1,39 <sup>cA</sup>	3,68±2,12 <sup>aA</sup>
<b>72</b>	<b>11</b>	3,21±1,21 <sup>abB</sup>	5,38±1,64 <sup>abA</sup>	2,12±0,76 <sup>bC</sup>
<b>120</b>	<b>13</b>	3,75±1,50 <sup>abB</sup>	4,92±1,46 <sup>bA</sup>	1,77±0,62 <sup>bC</sup>
<b>168</b>	<b>15</b>	4,22±0,48 <sup>aB</sup>	6,22±1,17 <sup>aA</sup>	1,43±0,63 <sup>bC</sup>
<b>Médias</b>		3,44±1,27 <sup>B</sup>	4,79±1,68 <sup>A</sup>	2,41±1,53 <sup>C</sup>

Letras minúsculas diferentes sinalizam diferença entre os intervalos

Letras maiúsculas diferentes sinalizam diferença entre os grupos

Momento – horas após a inserção do implante de progesterona

Dias estimados do ciclo – dias estimados do corpo lúteo após a ovulação

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Tabela 2** - Concentração de LH (média  $\pm$  SD) (ng/ml) nos grupos CL (corpo lúteo), Implante (DIB®), 1g de progesterona) +CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®) de novilhas Nelore (n=9) com duas repetições. As amostras foram colhidas de 12 em 12 h, e comparadas, entre os intervalos. A colocação do implante (DIB®) se deu no intervalo 0 h e a retirada no 204 h (Araçatuba, 2007).

<b>Momento (horas)</b>	<b>Grupo CL (n=13)</b>	<b>Grupo IMPL+CL (n=18)</b>	<b>Grupo IMPL+BE (n=18)</b>
<b>0</b>	0,58 $\pm$ 0,26 <sup>bA</sup>	0,57 $\pm$ 0,29 <sup>bcA</sup>	0,55 $\pm$ 0,24 <sup>bcdA</sup>
<b>12</b>	0,52 $\pm$ 0,22 <sup>bAB</sup>	0,40 $\pm$ 0,14 <sup>cB</sup>	0,98 $\pm$ 1,31 <sup>abA</sup>
<b>24</b>	0,41 $\pm$ 0,13 <sup>bA</sup>	0,41 $\pm$ 0,17 <sup>cA</sup>	0,46 $\pm$ 0,19 <sup>cdA</sup>
<b>36</b>	0,56 $\pm$ 0,19 <sup>bA</sup>	0,40 $\pm$ 0,14 <sup>cB</sup>	0,39 $\pm$ 0,19 <sup>dB</sup>
<b>48</b>	0,51 $\pm$ 0,17 <sup>bA</sup>	0,45 $\pm$ 0,18 <sup>cA</sup>	0,41 $\pm$ 0,18 <sup>cdA</sup>
<b>60</b>	0,60 $\pm$ 0,40 <sup>bA</sup>	0,52 $\pm$ 0,24 <sup>cAB</sup>	0,36 $\pm$ 0,20 <sup>dB</sup>
<b>72</b>	0,41 $\pm$ 0,16 <sup>bA</sup>	0,43 $\pm$ 0,17 <sup>cA</sup>	0,45 $\pm$ 0,20 <sup>cdA</sup>
<b>84</b>	0,50 $\pm$ 0,19 <sup>bA</sup>	0,41 $\pm$ 0,21 <sup>cA</sup>	0,44 $\pm$ 0,18 <sup>cdA</sup>
<b>96</b>	0,50 $\pm$ 0,24 <sup>bA</sup>	0,40 $\pm$ 0,16 <sup>cA</sup>	0,44 $\pm$ 0,22 <sup>cdA</sup>
<b>108</b>	0,59 $\pm$ 0,37 <sup>bA</sup>	0,43 $\pm$ 0,17 <sup>cA</sup>	0,47 $\pm$ 0,21 <sup>cdA</sup>
<b>120</b>	0,50 $\pm$ 0,23 <sup>bA</sup>	0,51 $\pm$ 0,19 <sup>cA</sup>	0,56 $\pm$ 0,27 <sup>bcdA</sup>
<b>132</b>	0,46 $\pm$ 0,19 <sup>bA</sup>	0,44 $\pm$ 0,19 <sup>cA</sup>	0,48 $\pm$ 0,26 <sup>cdA</sup>
<b>144</b>	0,50 $\pm$ 0,17 <sup>bA</sup>	0,42 $\pm$ 0,17 <sup>cA</sup>	0,49 $\pm$ 0,26 <sup>cdA</sup>
<b>156</b>	0,52 $\pm$ 0,27 <sup>bA</sup>	0,49 $\pm$ 0,24 <sup>cA</sup>	0,53 $\pm$ 0,23 <sup>bcdA</sup>
<b>168</b>	0,50 $\pm$ 0,22 <sup>bA</sup>	0,48 $\pm$ 0,24 <sup>cA</sup>	0,57 $\pm$ 0,33 <sup>bcdA</sup>
<b>180</b>	0,55 $\pm$ 0,35 <sup>bA</sup>	0,50 $\pm$ 0,23 <sup>cA</sup>	0,59 $\pm$ 0,23 <sup>bcdA</sup>
<b>192</b>	0,60 $\pm$ 0,39 <sup>bA</sup>	0,54 $\pm$ 0,21 <sup>bcA</sup>	0,68 $\pm$ 0,36 <sup>abcA</sup>
<b>204</b>	0,96 $\pm$ 0,30 <sup>aA</sup>	0,77 $\pm$ 0,27 <sup>aA</sup>	0,94 $\pm$ 0,35 <sup>aA</sup>
<b>216</b>	0,97 $\pm$ 0,32 <sup>aA</sup>	0,70 $\pm$ 0,22 <sup>abA</sup>	0,81 $\pm$ 0,40 <sup>abA</sup>

Letras minúsculas diferentes sinalizam diferença entre os intervalos

Letras maiúsculas diferentes sinalizam diferença entre os grupos

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Tabela 3** - Concentração de FSH (ng/ml, média  $\pm$  SD) nos grupos CL (corpo lúteo), Implante (DIB®), 1g de progesterona) +CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®) de novilhas Nelore (n=9) com duas repetições. As amostras foram colhidas de 12 em 12 h, e comparadas, entre os intervalos. A colocação do implante (DIB®) se deu no intervalo 0 h e a retirada no 204 h (Araçatuba, 2007).

<b>Momento (horas)</b>	<b>Grupo CL (n=13)</b>	<b>Grupo IMPL+CL (n=18)</b>	<b>Grupo IMPL+BE (n=18)</b>
<b>0</b>	0,44 $\pm$ 0,08 <sup>aA</sup>	0,46 $\pm$ 0,10 <sup>aA</sup>	0,46 $\pm$ 0,12 <sup>aA</sup>
<b>12</b>	0,40 $\pm$ 0,11 <sup>abA</sup>	0,40 $\pm$ 0,08 <sup>abcdA</sup>	0,34 $\pm$ 0,11 <sup>bcdefA</sup>
<b>24</b>	0,38 $\pm$ 0,11 <sup>abA</sup>	0,43 $\pm$ 0,06 <sup>abcA</sup>	0,30 $\pm$ 0,07 <sup>fB</sup>
<b>36</b>	0,34 $\pm$ 0,07 <sup>abA</sup>	0,41 $\pm$ 0,08 <sup>abcdA</sup>	0,35 $\pm$ 0,09 <sup>bcdefA</sup>
<b>48</b>	0,32 $\pm$ 0,07 <sup>bB</sup>	0,44 $\pm$ 0,14 <sup>abA</sup>	0,37 $\pm$ 0,08 <sup>bcdefAB</sup>
<b>60</b>	0,34 $\pm$ 0,07 <sup>bB</sup>	0,42 $\pm$ 0,08 <sup>abcdA</sup>	0,39 $\pm$ 0,09 <sup>abcdeAB</sup>
<b>72</b>	0,38 $\pm$ 0,11 <sup>abA</sup>	0,41 $\pm$ 0,08 <sup>abcdA</sup>	0,42 $\pm$ 0,14 <sup>abcA</sup>
<b>84</b>	0,36 $\pm$ 0,08 <sup>abA</sup>	0,38 $\pm$ 0,07 <sup>bcdA</sup>	0,43 $\pm$ 0,15 <sup>abA</sup>
<b>96</b>	0,39 $\pm$ 0,09 <sup>abA</sup>	0,38 $\pm$ 0,07 <sup>abcdA</sup>	0,40 $\pm$ 0,12 <sup>abcdA</sup>
<b>108</b>	0,39 $\pm$ 0,09 <sup>abA</sup>	0,36 $\pm$ 0,07 <sup>bcdA</sup>	0,37 $\pm$ 0,08 <sup>bcdefA</sup>
<b>120</b>	0,40 $\pm$ 0,13 <sup>abA</sup>	0,40 $\pm$ 0,08 <sup>abcdA</sup>	0,35 $\pm$ 0,10 <sup>bcdefA</sup>
<b>132</b>	0,39 $\pm$ 0,13 <sup>abA</sup>	0,36 $\pm$ 0,07 <sup>bcdA</sup>	0,33 $\pm$ 0,09 <sup>cdefA</sup>
<b>144</b>	0,36 $\pm$ 0,09 <sup>abA</sup>	0,36 $\pm$ 0,08 <sup>cdA</sup>	0,35 $\pm$ 0,06 <sup>bcdefA</sup>
<b>156</b>	0,35 $\pm$ 0,08 <sup>bA</sup>	0,38 $\pm$ 0,05 <sup>bcdA</sup>	0,34 $\pm$ 0,08 <sup>bcdefA</sup>
<b>168</b>	0,35 $\pm$ 0,07 <sup>abA</sup>	0,38 $\pm$ 0,06 <sup>bcdA</sup>	0,33 $\pm$ 0,07 <sup>defA</sup>
<b>180</b>	0,37 $\pm$ 0,09 <sup>abA</sup>	0,37 $\pm$ 0,07 <sup>bcdA</sup>	0,32 $\pm$ 0,08 <sup>defA</sup>
<b>192</b>	0,38 $\pm$ 0,10 <sup>abA</sup>	0,38 $\pm$ 0,06 <sup>abcdA</sup>	0,32 $\pm$ 0,09 <sup>defA</sup>
<b>204</b>	0,36 $\pm$ 0,12 <sup>abA</sup>	0,35 $\pm$ 0,07 <sup>dA</sup>	0,33 $\pm$ 0,08 <sup>defA</sup>
<b>216</b>	0,33 $\pm$ 0,07 <sup>bA</sup>	0,35 $\pm$ 0,08 <sup>dA</sup>	0,31 $\pm$ 0,08 <sup>efA</sup>

Letras minúsculas diferentes sinalizam diferença entre os intervalos

Letras maiúsculas diferentes sinalizam diferença entre os grupos

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Tabela 4** - Área total, área total do pico, amplitude máxima, e tempo para o 1° pico de secreção de LH (Média ± SD) em novilhas Nelore, divididas em 3 grupos, com diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+PgF2α (DIB®). Após retirada dos implantes foi aplicada PGF2α e lecirelina (GnRH) (com amostras colhidas a cada hora), ou benzoato de estradiol (BE, amostras colhidas a cada 3 horas) (Araçatuba, 2007).

	CL (n=5)	GnRH IMPL+CL (n=9)	IMPL +BE (n=9)	CL (n=5)	BE IMPL+CL (n=4)	IMPL +BE (n=8)
<b>Área Total (ng/ml xh)</b>	60,66±15,3 <sup>A</sup>	59,83±28,45 <sup>A</sup>	67,42±16,26 <sup>A</sup>	67,47±32,23 <sup>A</sup>	51,61±39,52 <sup>A</sup>	71,7±39,25 <sup>A</sup>
<b>Área Total pico (ng/ml xh)</b>	35,83±9,11 <sup>A</sup>	35,54±16,67 <sup>A</sup>	39,97±9,11 <sup>A</sup>	33,53±22,08 <sup>A</sup>	25,66±25,02 <sup>A</sup>	40,38±26,66 <sup>A</sup>
<b>Tempo p/ pico (h)</b>	0,78±0,41 <sup>A</sup>	0,82±0,49 <sup>A</sup>	0,57±0,23 <sup>A</sup>	12,53±5,09 <sup>A</sup>	12,72±5,2 <sup>A</sup>	10,9±4,57 <sup>A</sup>
<b>Amplitude máx. pico (ng/ml)</b>	23,31±7,75 <sup>Aa</sup>	23,94±10,47 <sup>Ac</sup>	27,84±9,52 <sup>Ae</sup>	11,1±8,44 <sup>Aa</sup>	8,73±8,19 <sup>Ac</sup>	13,65±9,92 <sup>Af</sup>

Letras minúsculas sinalizam diferença entre os hormônios indutores da ovulação (BE e GnRH) dentro de cada grupos de diferentes concentrações de Progesterona (CL, IMPL+CL e IMPL).

Letras maiúsculas diferentes sinalizam diferença entre os grupos de diferentes concentrações de Progesterona (CL, IMPL+CL e IMPL) dentro de cada hormônio indutor da ovulação (BE e GnRH).

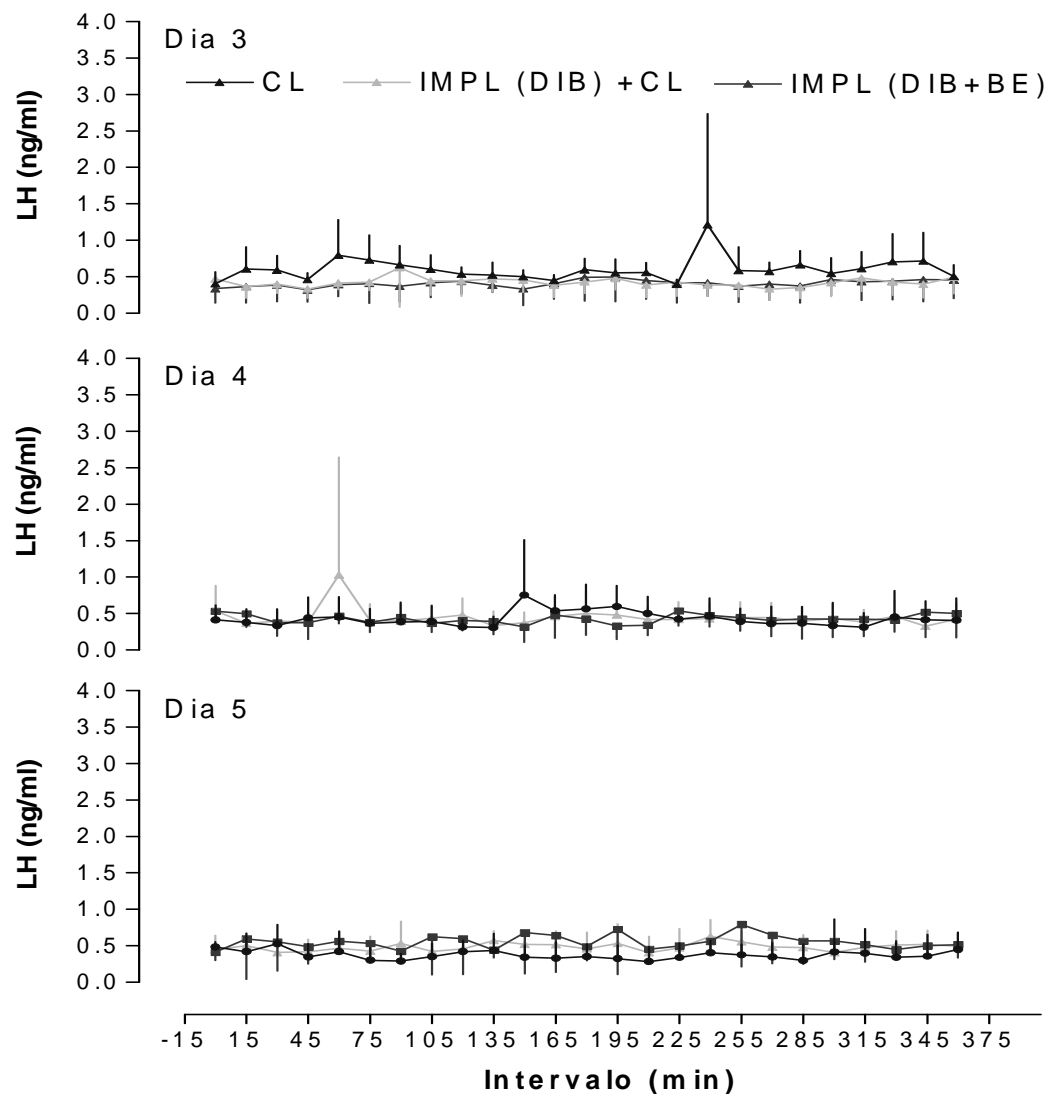
**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Tabela 5** - Número de folículos, diâmetro do maior folículo e do 2º maior Folículo (média  $\pm$ SEM), em novilhas Nelore n=9, divididas em 3 grupos em 2 repetições com diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®), avaliadas por ultra-sonografia em intervalo de 12 h do dia 08 ao dia 15 do ciclo estral (Araçatuba, 2007).

	<b>CL</b>	<b>IMPL+CL</b>	<b>IMPL+BE</b>
<b>Número de folículos</b>	7,93 $\pm$ 0,10 <sup>A</sup>	8,50 $\pm$ 0,10 <sup>B</sup>	8,60 $\pm$ 0,11 <sup>B</sup>
<b>Diâmetro do maior folículo (mm)</b>	9,90 $\pm$ 0,13 <sup>A</sup>	8,64 $\pm$ 0,09 <sup>C</sup>	9,34 $\pm$ 0,13 <sup>B</sup>
<b>Diâmetro do 2º maior folículo (mm)</b>	5,57 $\pm$ 0,12 <sup>A</sup>	5,42 $\pm$ 0,07 <sup>AB</sup>	5,25 $\pm$ 0,10 <sup>B</sup>

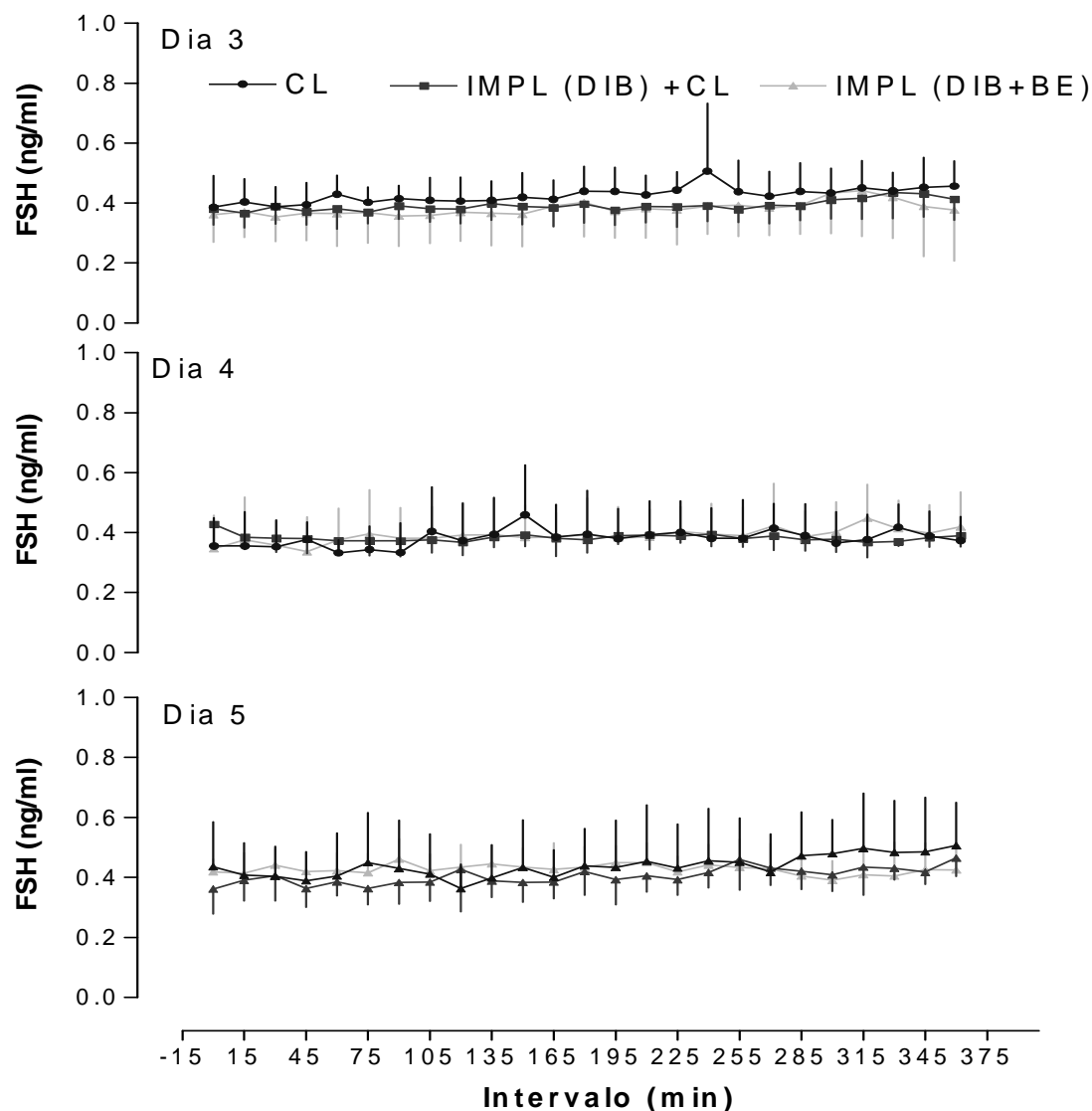
Letras maiúsculas diferentes sinalizam diferença entre os grupos

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**



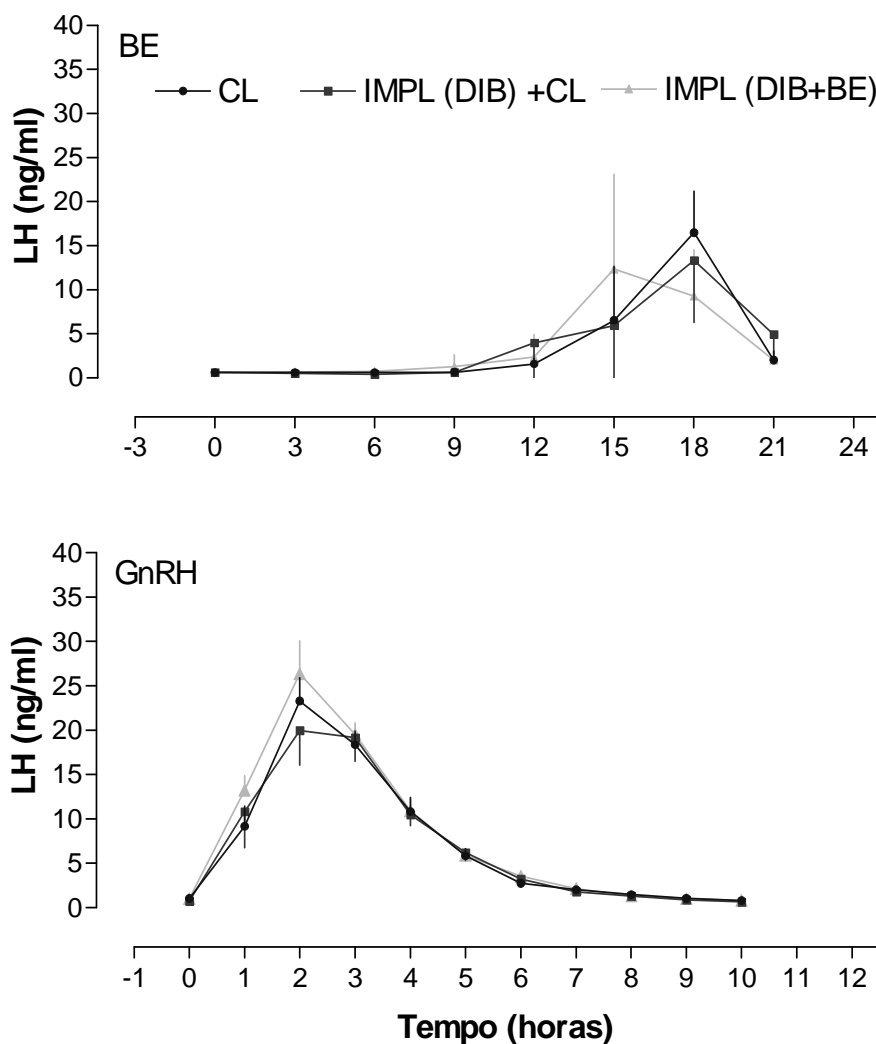
**Figura 2** - Variação da concentração de LH (média  $\pm$  SD), das amostras colhidas em intervalos de 15 min por 6 h no dias 3, 4 e 5 após a inserção do implante de progesterona em novilhas Nelore (n=9, em 2 repetições) dos grupos: CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®). Os resultados das duas repetições foram agrupados e analisados (Araçatuba, 2007).

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**



**Figura 3** - Variação da concentração de FSH (média  $\pm$  SD), das amostras colhidas em intervalos de 15 min por 6 h nos dias 3, 4 e 5 após a inserção do implante de progesterona em novilhas Nelore (n=9, em 2 repetições) dos grupos: CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®). Os resultados das duas repetições foram agrupados e analisados (Araçatuba, 2007).

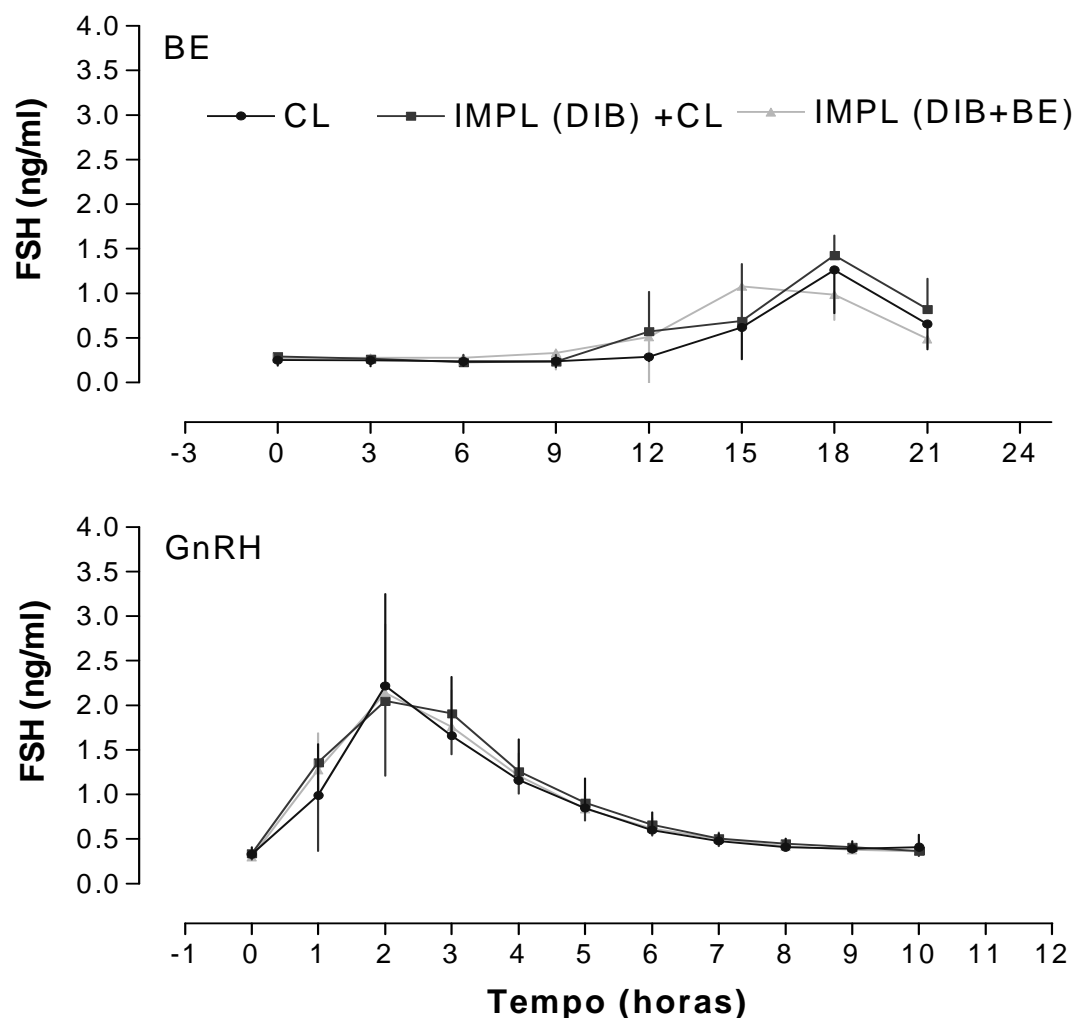
**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**



**Figura 4** - Variação da concentração de LH (média  $\pm$  SD) em novilhas Nelore n=9, divididas em 3 grupos com diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2 $\alpha$  (DIB®), após retirada dos implantes, aplicação de PgF2 $\alpha$  e aplicação de leirelina (GnRH) (0 horas) amostras colhidas em intervalos de 1 h, ou aplicação de BE (0 horas), amostras colhidas em intervalo de 3 h (Araçatuba, 2007).



**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**



**Figura 5** - Variação da concentração de FSH (valores não transformados, média  $\pm$  SD) em novilhas Nelore n=9, divididas em 3 grupos com diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+PgF2 $\alpha$  (DIB®), após retirada dos implantes, aplicação de PgF2 $\alpha$  e aplicação de lecirelina (GnRH) (0 horas) amostras colhidas em intervalos de 1 h ou aplicação de BE (0 horas), amostras colhidas em intervalo de 3 h. (Araçatuba, 2007).

**Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo com diferentes concentrações de progesterona**

**Tabela 6** - Taxa de ovulação em novilhas Nelore n=9, divididas em 3 grupos com diferentes concentrações de progesterona, CL (corpo lúteo), Implante (DIB®, 1g de progesterona)+CL e Implante+BE+ PgF2α (DIB®), avaliadas por ultra-sonografia em intervalo de 24 h, após retirada dos implantes, aplicação de PGF2α, lecirelina (GnRH, 38h) ou Benzoato de estradiol (BE, 24h) (teste  $\chi^2$ ) (Araçatuba, 2007).

Hormônio	Ovulação		CL		IMPL+ CL		IMPL+BE		p <sup>1</sup>
	Horas	n	%	n	%	n	%		
BE	24h	6	67%	1	11%	7	78%	0,0129 *	
	48h	3	33%	8	89%	2	22%		
	<b>Total</b>	9	100%	9	100%	9	100%		
GnRH	24h	4	100%	6	67%	9	100%	0,1818	
	48h	0	0%	3	33%	0	0%		
	<b>Total</b>	4	100%	9	100%	9	100%		
p <sup>2</sup>			0,4965		0,0498 *		0,4706		
<b>Total</b>	24h	10	77%	7	39%	16	89%	0,0041 *	
	48h	3	23%	11	61%	2	11%		
	<b>Total</b>	13	100%	18	100%	18	100%		

p<sup>1</sup> sinaliza diferença entre os grupos (CL, IMPL+CL e IMPL), no total e dentro de cada hormônio da ovulação.  
p<sup>2</sup> sinaliza diferença entre GnRH e BE, dentro de cada grupo (CL, IMPL+CL e IMPL).

## **Conclusões finais**

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

O excesso de progesterona em novilhas com CL que receberam implante de P4 deprimiu a concentração de LH, interferiu na secreção de FSH, comprometeu o desenvolvimento folicular após a retirada do implante, proporcionou taxas de ovulação sincronizadas (24 h) insatisfatórias.

A estimulação com leirelina (GnRH) ou BE induziu um pico pré-ovulatório de LH após a retirada dos implantes.

Os tratamentos com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao benzoato de estradiol podem ser empregados utilizando-se para induzir a ovulação tanto o benzoato de estradiol, como a leirelina (GnRH), ambos proporcionando taxas de ovulação satisfatórias.

A associação de BE e progesterona no início dos protocolos hormonais pode ser utilizado com o benzoato de estradiol para indução da ovulação, proporcionando taxas de ovulação satisfatórias, permitindo a redução de custos nesses protocolos.

## **Anexos**

### **Anexo 1**

Periódico indexado ao qual os artigos serão submetidos à publicação:

Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science (Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

Normas editoriais:

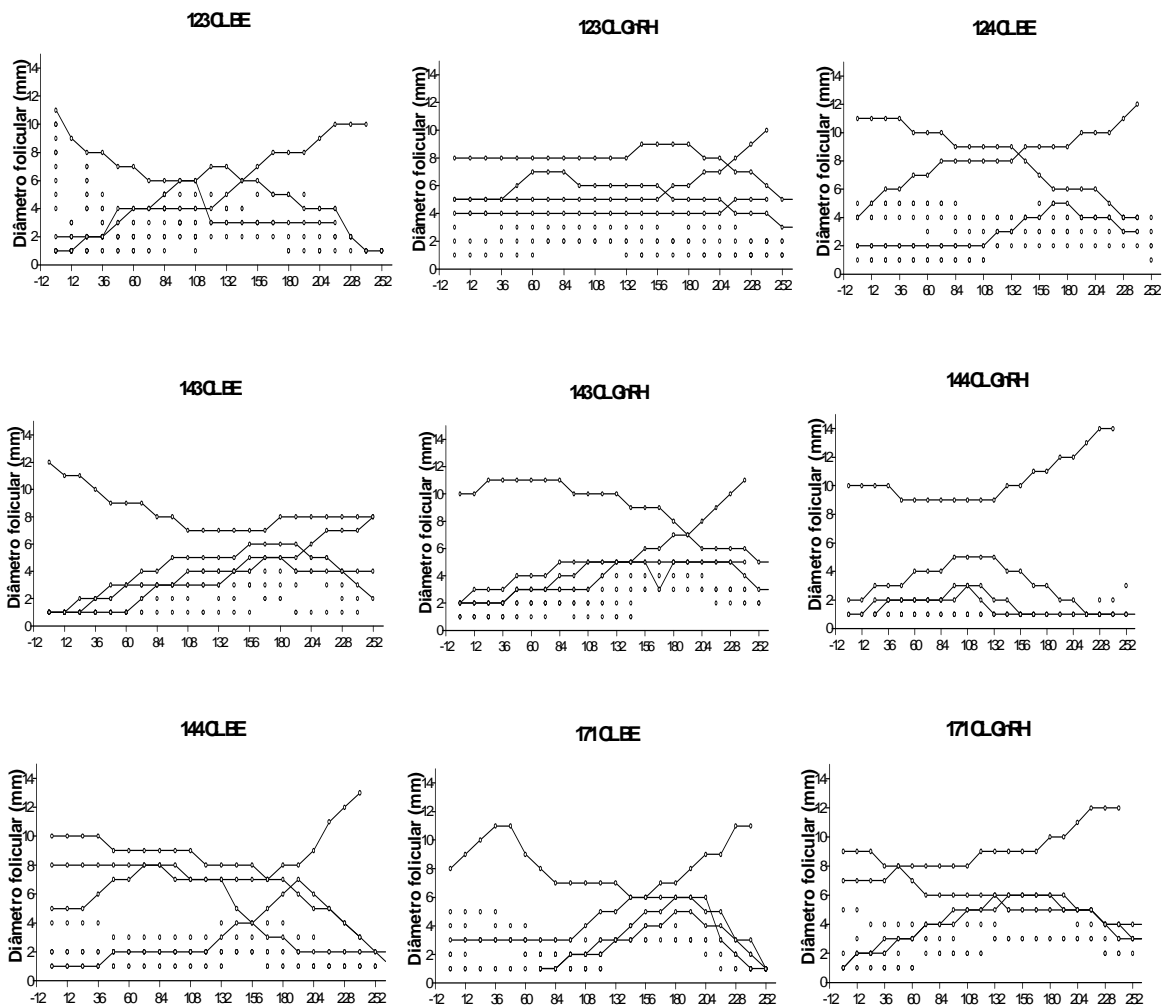
- 1 - Deverá ser inédito e destinar-se exclusivamente ao periódico Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science.
- 2 - Limitar-se a um máximo de dez páginas digitadas.
- 3 - Ser escrito em língua portuguesa, na ortografia oficial, ou em língua inglesa.
- 4 - Usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas, não empregando abreviaturas no título do artigo.
- 5 - Ser estruturado dentro dos seguintes itens:
  - a) Página de rosto
  - b) Título em português e inglês
  - c) Introdução
  - d) Material e Método
  - e) Resultados
  - f) Discussão
  - g) Conclusões
  - h) Referências Bibliográficas
  - i) Resumo/Summary e Unitermos/Uniterms.

Os itens Resultados, Discussão e Conclusões poderão ser colocados em uma única seção.

- 6 - Apresentar, obrigatoriamente, dois resumos, nos idiomas inglês e português, não devendo ultrapassar 250 (duzentos e cinquenta) palavras, seguidos dos unitermos, limitados a 5 (cinco), que correspondem a palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo. Os resumos não têm parágrafos e seus unitermos devem estar escritos na forma maiúscula e minúscula.

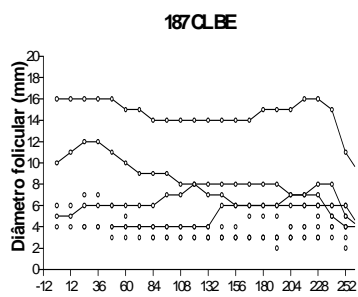
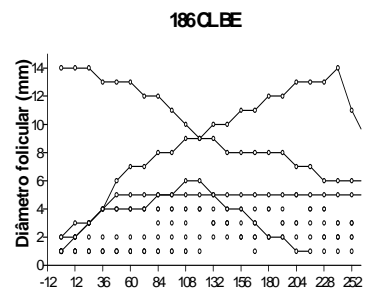
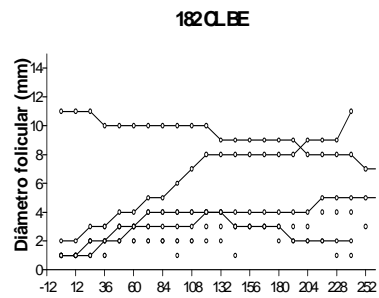
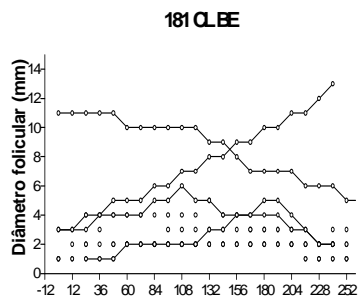
## Anexo 2

Dinâmica folicular dos animais do grupo CL.



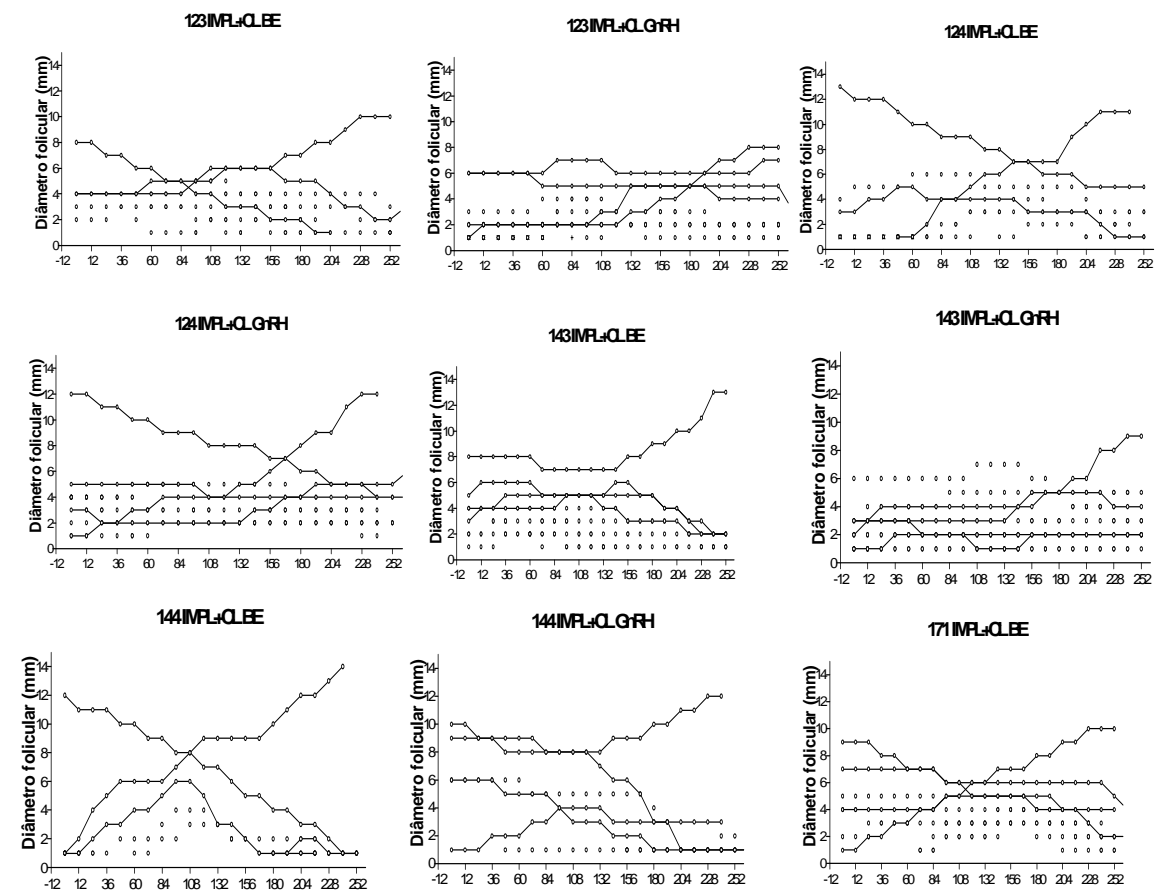
## Anexo 3

Dinâmica folicular dos animais do grupo CL.



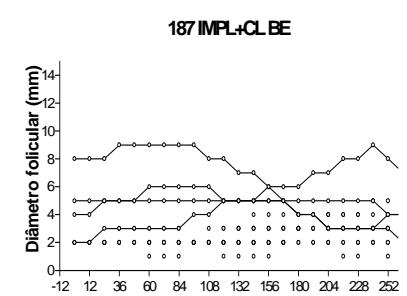
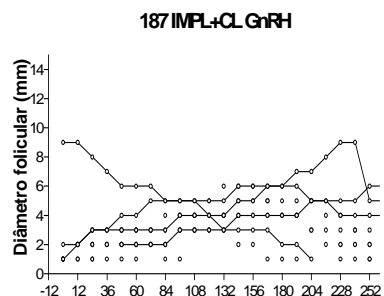
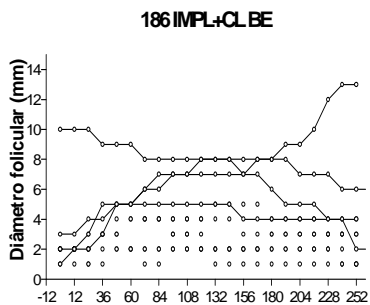
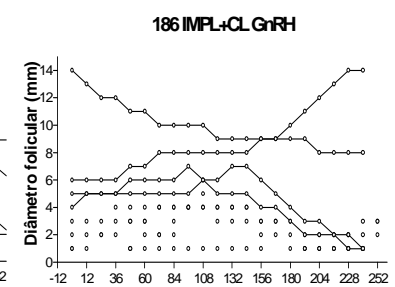
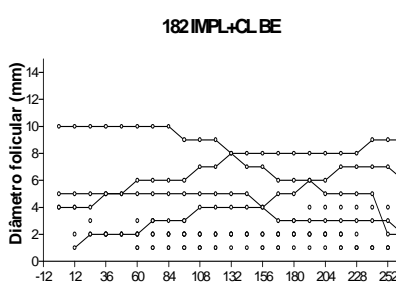
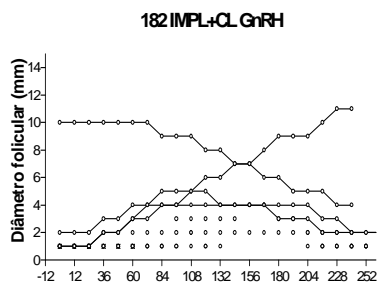
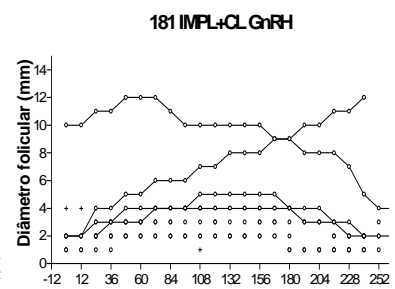
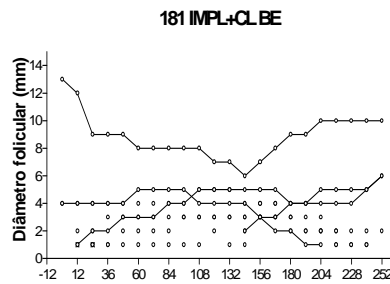
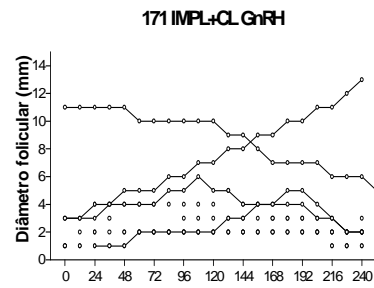
## Anexo 4

Dinâmica folicular dos animais do grupo IMPL+CL.



## Anexo 5

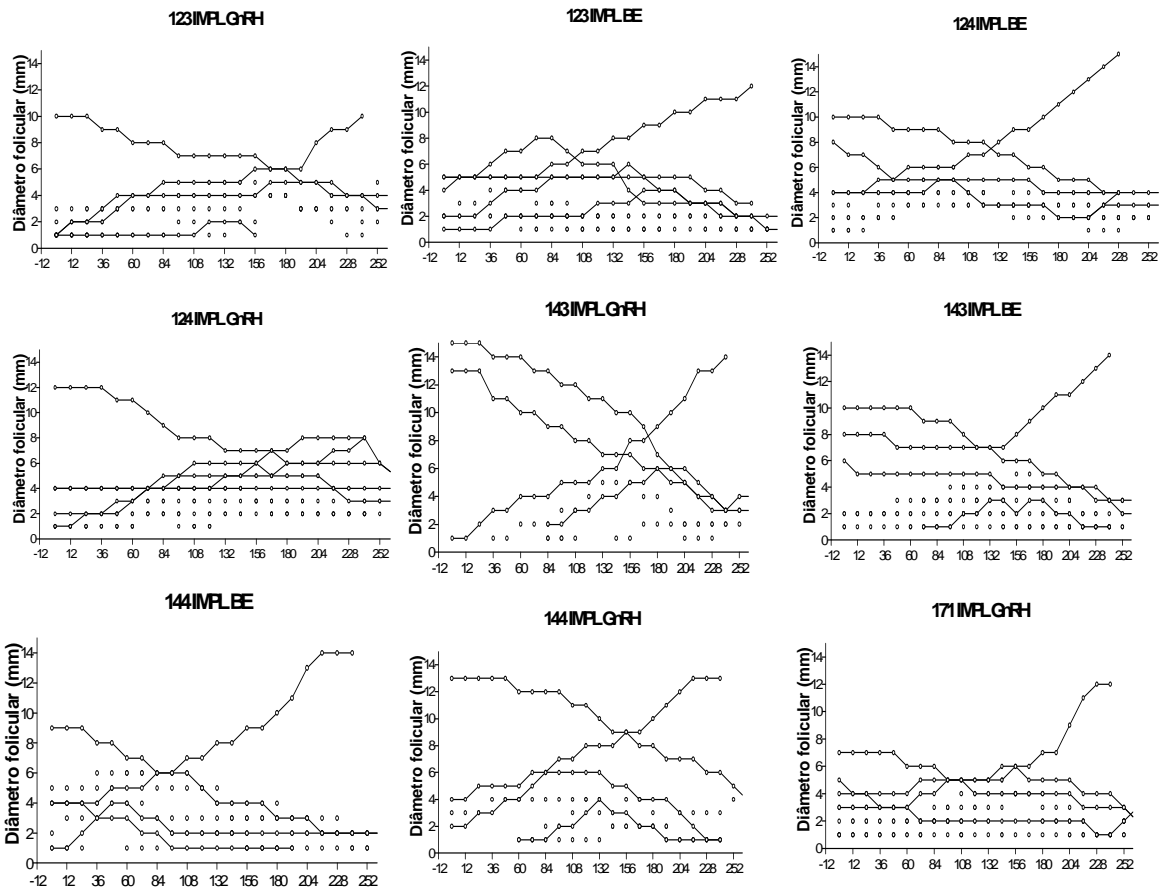
Dinâmica folicular dos animais do grupo IMPL+CL.





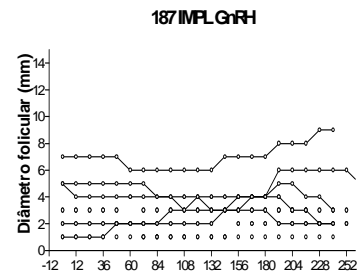
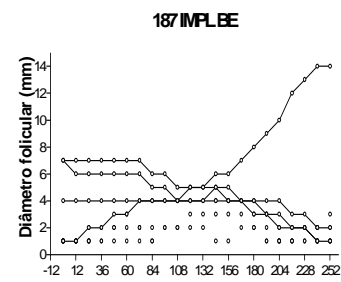
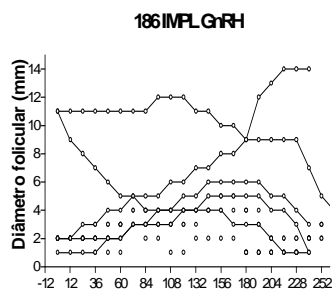
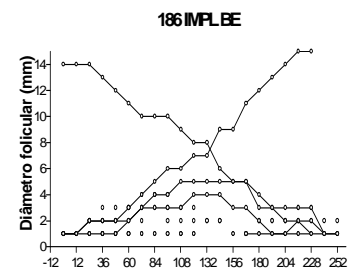
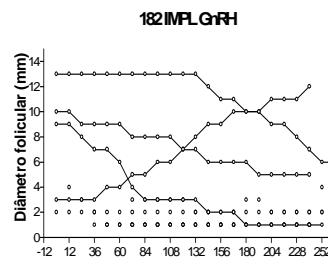
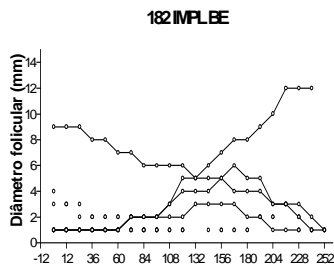
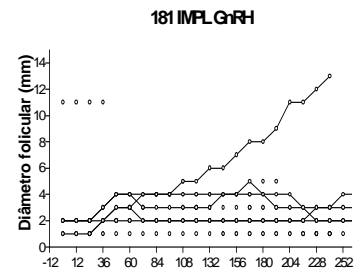
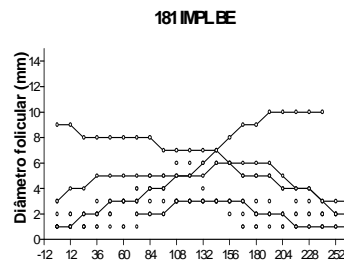
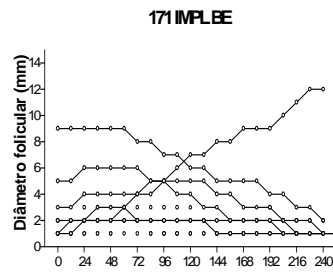
## Anexo 6

Dinâmica folicular dos animais do grupo IMPL.



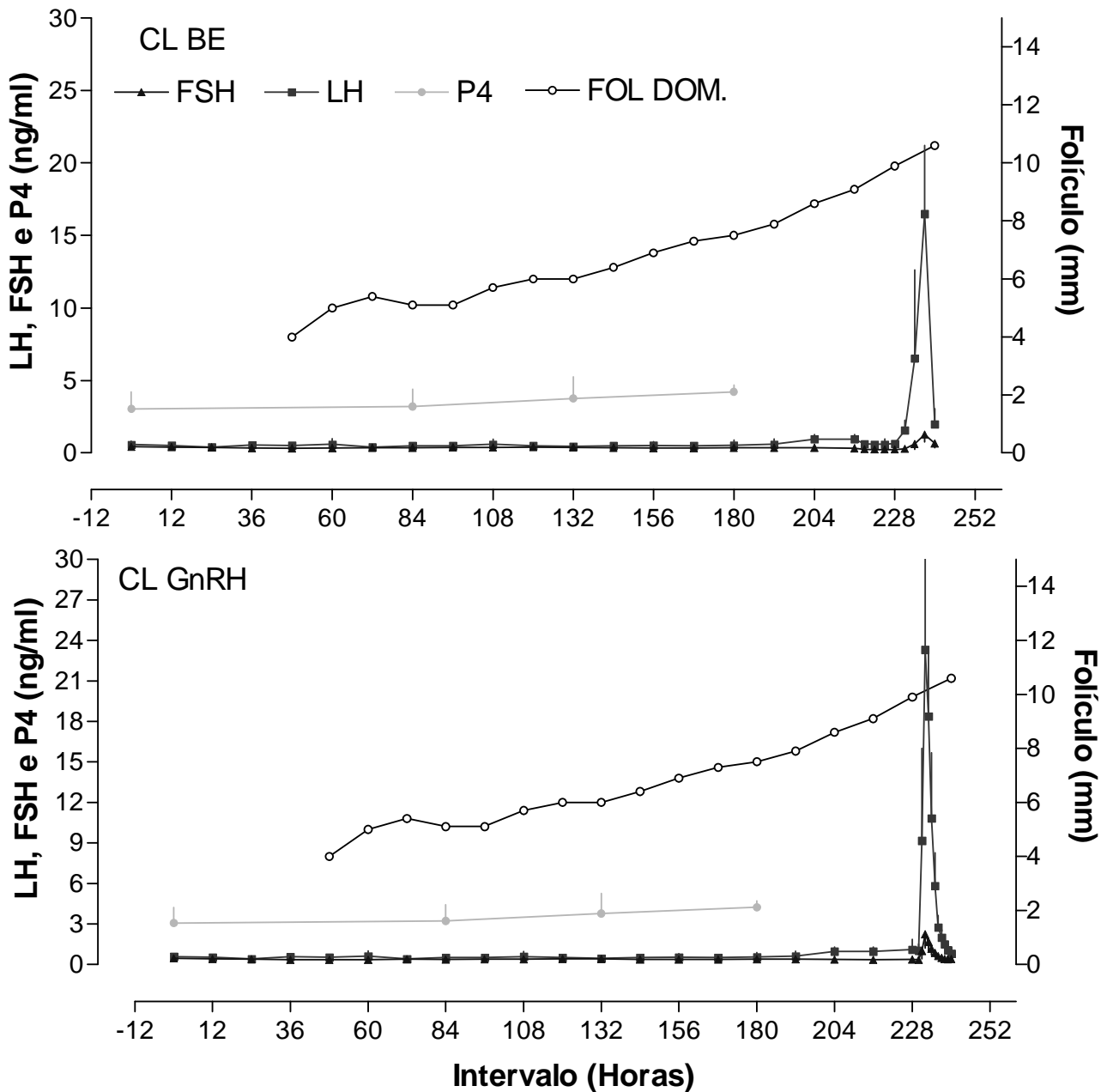
## Anexo 7

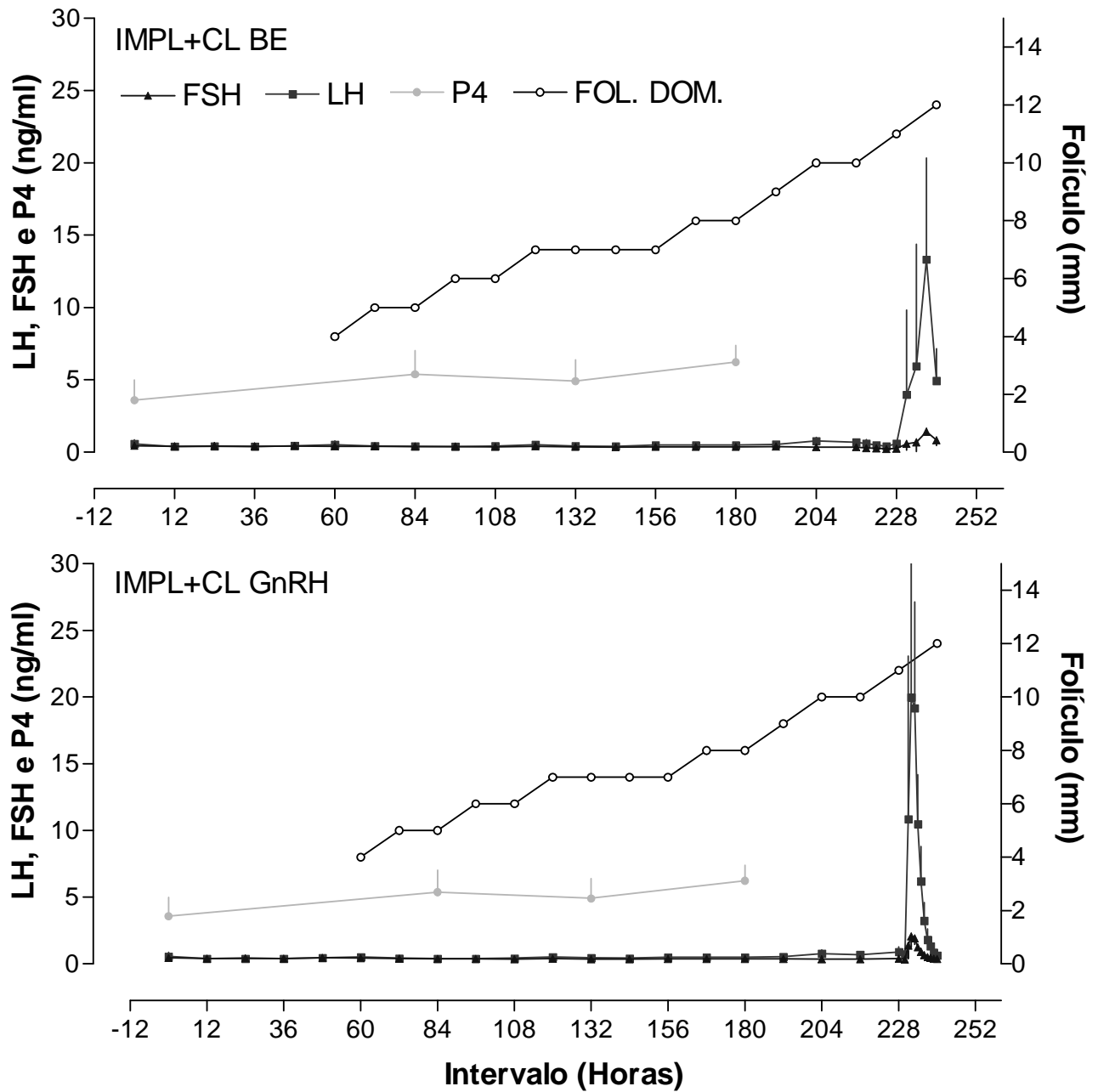
Dinâmica folicular dos animais do grupo IMPL.

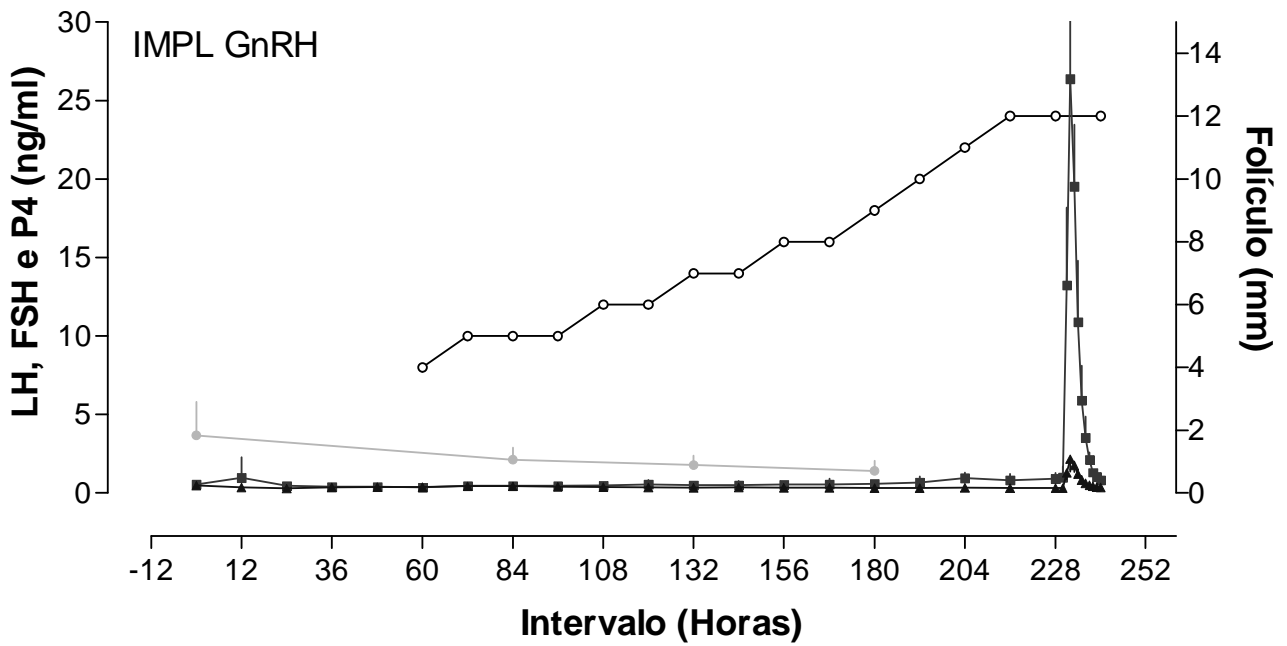
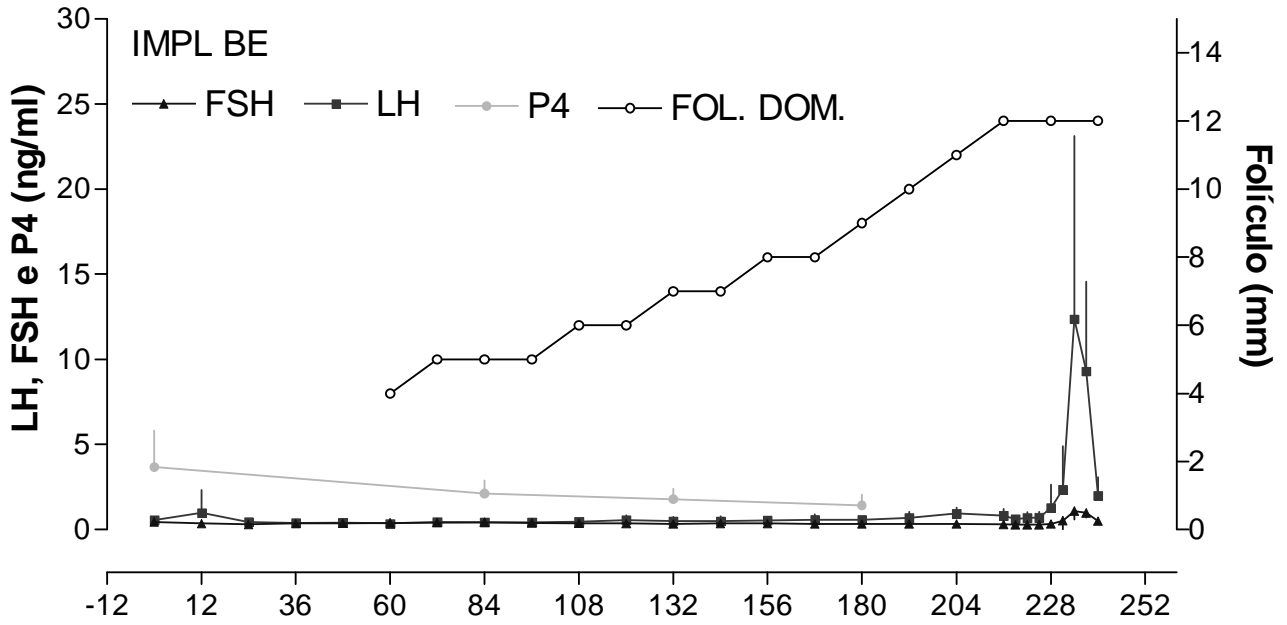


## Anexo 8

Gráficos representativos do trabalho.







# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)