

VINICIO ARAUJO NASCIMENTO

**ESTRATÉGIAS PARA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS
NO USO DAS BIOTÉCNICAS INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do Título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
2009

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

VINICIO ARAUJO NASCIMENTO

**ESTRATÉGIAS PARA EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE VACAS
NO USO DAS BIOTÉCNICAS INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL E
TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do Título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 02 de outubro de 2009.

Prof. Giovanni Ribeiro de Carvalho
(Co-orientador)

Prof^ª. Théa Míriam Medeiros Machado
(Co-orientadora)

Prof. Margarida M. N. F. de Oliveira

Prof. Clóvis Andrade Neves

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres
(Orientador)

Às pessoas mais importantes da minha vida,

*meus pais, Sebastião Antônio Araujo Naves e Vilma Nascimento Naves,
irmãs, Viviany Araujo Nascimento e Virginia Araujo Nascimento, e
minha noiva, Marcia Dias.*

A eles eu dedico este trabalho.

*“O saber a gente aprende com os mestres e os livros. A
sabedoria, se aprende é com a vida e com os humildes”.*

(Cora Coralina)

*“Sábio é o homem que conhece alguma coisa sobre tudo
e não tudo sobre alguma coisa.*

*O mais sábio é aquele que estuda como se fosse viver
eternamente e vive como se fosse morrer amanhã”.*

(Anônimo)

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Zootecnia pela oportunidade de realização deste curso.

À CAPES e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Ciro Alexandre Alvez Torres, pelos ensinamentos, convivência, amizade, conselhos e sugestões para a realização deste trabalho e de vida.

À professora Margarida Maria Nascimento Figueiredo de Oliveira, pelos ensinamentos, conselhos e auxílios, minha eterna gratidão.

À professora Théa, pela confiança e apoio necessário.

Aos professores Eduardo Paulino da Costa, Giovanni Ribeiro de Carvalho e José Domingos Guimarães por toda ajuda, disposição e sugestões para a realização deste trabalho.

Ao professor Clóvis Andrade Neves pelo sincero apoio e pela inspiração em seu comportamento.

Às professoras Cristina Veloso e Luciana Keiko por toda amizade, conselhos e ensinamentos nas fases mais críticas dos experimentos, meu eterno agradecimento.

A Belmiro Zamperlin, por toda amizade, empenho, colaboração e confiança para realização do trabalho.

Ao professor Mário Fonseca Paulino, pela confiança na realização dos experimentos.

Aos proprietários das fazendas colaboradoras, Breno Gontijo e José Antônio, meus sinceros agradecimentos pela amizade, confiança, apoio e ajuda para realização dos experimentos.

Ao funcionário do Gado de Corte Lourival, Neco e das fazendas colaboradoras, pela ajuda na realização dos experimentos.

Aos demais funcionários do Departamento de Zootecnia, pelo apoio concedido durante a realização do curso.

Às empresas Tecnopec, nas pessoas de Isabel e Renato, e Schering-Plough Animal Health, na pessoa de Rui Junqueira, por toda confiança, auxílios e apoio pela concessão de materiais experimentais.

Aos meus sinceros amigos Fabrício Albani, Guilherme Moura e Joanna, todo meu agradecimento pela amizade de vocês, confiança e apoio nos experimentos.

Ao estagiário Alexandro Rubim Dias, minha eterna gratidão por todo auxílio e apoio.

Às estagiárias Lara Dutra, Graciele e Thainan, agradeço toda dedicação e empenho.

À Luciana Coutinho e Tathiane, pela amizade e auxílios nos experimentos.

Ao Alejandro, Breno, Cássio, Charles, Diana, Fabrício, Felipe, Juan Fernando, Mateus, Mônica, Wender meus sinceros agradecimentos por toda nossa convivência, compartilhamento de república e amizade.

Ao Daniel Conde, Daniel Rates, Guilherme Pugliesi, Isabela, Jéssica, Juninho, Natália, Renan, pela amizade, auxílio para a realização dos experimentos e pela amizade.

Aos amigos da Veterinária e da Zootecnia, Alessandra, Anderson, Ângela, Dawson, Éric, Henrique, Jean, Juliana, Juscilene, Larissa, Leonardo, Leonília, Luisa, Marlos, Mauro, Silvia, Viviane, pela amizade, convivência e por tornarem a vivência em Viçosa mais agradável e descontraída.

Aos meus pais, irmãs, cunhados e demais familiares, pela confiança, torcida, pela força em todas as fases desta caminhada, enfim, por tudo.

Ao meu amor, minha vida, minha futura esposa Marcia Dias, pela ajuda primordial na realização de todos experimentos, por toda confiança, paciência e auxílio em todos os momentos na realização dos experimentos e por ter sido a luz de minha vida na Pós-graduação.

A todos que direta ou indiretamente, mesmo que não mencionados, foram responsáveis pela realização deste trabalho, meu eterno agradecimento.

Enfim, a todos os bovinos e à Deus por tudo que tornou possível a minha contribuição para a ciência.

SUMÁRIO

| | |
|--|------|
| RESUMO | ix |
| ABSTRACT | xiii |
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| REVISÃO DE LITERATURA | 2 |
| 1. Inseminação artificial | 3 |
| 2. Transferência de Embriões | 13 |
| 2.1. Superovulação | 14 |
| 2.2. Coleta de embriões | 15 |
| 2.3. Desenvolvimento embrionário | 15 |
| 2.4. Aumento da densidade energética e protéica da dieta | 16 |
| Literatura citada | 17 |
| BENZOATO DE ESTRADIOL NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO ASSOCIADO À SUPLEMENTO DE AMINOÁCIDOS E POLIPEPTÍDEOS INJETÁVEL EM VACAS DA RAÇA NELORE | 26 |
| Resumo | 26 |
| Abstract | 26 |
| Introdução | 28 |
| Material e Métodos | 29 |
| Resultados e Discussão | 33 |
| Conclusões | 46 |
| Literatura citada | 46 |
| DINÂMICA FOLICULAR E TAXA DE PREENHEZ NA SINCRONIZAÇÃO DE OVULAÇÃO ASSOCIADO À ADMINISTRAÇÃO DE FSH-P EM VACAS DA RAÇA NELORE | 51 |

| | |
|--|-----|
| Resumo..... | 51 |
| Abstract..... | 51 |
| Introdução..... | 53 |
| Material e Métodos..... | 54 |
| Resultados e Discussão..... | 57 |
| Conclusões..... | 65 |
| Literatura citada..... | 65 |
| HORMÔNIO COM AÇÃO FOLÍCULO ESTIMULANTE NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS DA RAÇA GIROLANDO..... | 70 |
| Resumo..... | 70 |
| Abstract..... | 70 |
| Introdução..... | 72 |
| Material e Métodos..... | 73 |
| Resultados e Discussão..... | 76 |
| Conclusões..... | 89 |
| Literatura citada..... | 89 |
| BENZOATO DE ESTRADIOL NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO ASSOCIADO AO HORMÔNIO SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (bST-r) EM VACAS DA RAÇA GIROLANDO..... | 95 |
| Resumo..... | 95 |
| Abstract..... | 95 |
| Introdução..... | 97 |
| Material e Métodos..... | 98 |
| Resultados e Discussão..... | 102 |
| Conclusões..... | 114 |
| Literatura citada..... | 114 |
| <i>FLUSHING</i> NUTRICIONAL EM PROTOCOLO DE SUPEROVULAÇÃO DE VACAS DA RAÇA NELORE..... | 119 |
| Resumo..... | 119 |
| Abstract..... | 119 |
| Introdução..... | 121 |
| Material e Métodos..... | 122 |
| Resultados e Discussão..... | 126 |
| Conclusões..... | 137 |
| Literatura citada..... | 137 |
| CONCLUSÕES GERAIS..... | 142 |

RESUMO

NASCIMENTO, Vinicio Araujo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2009. **Estratégias para eficiência reprodutiva de vacas no uso das biotécnicas Inseminação Artificial e Transferência de Embriões.** Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. Co-orientadores: Giovanni Ribeiro de Carvalho e Théa Míriam Medeiros Machado.

Objetivou-se avaliar em protocolos de sincronização da ovulação a dinâmica folicular e a eficiência reprodutiva em vacas da raça Nelore com a administração de benzoato de estradiol (BE) associado a suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável; após o uso de FSH-p para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em vacas da raça Nelore; após o uso de hormônios estimulantes gonadotróficos (eCG e FSH-p) em vacas da raça Girolando; após a administração de BE associado à somatotropina bovina recombinante (bST-r) em vacas da raça Girolando e estudar a eficiência de associação de *flushing nutricional* sobre a resposta superovulatória, número, qualidade e morfologia dos embriões de vacas da raça Nelore. Foram realizados cinco estudos. Nas análises estatísticas, utilizou-se o programa SAS[®] 9.0, a 5% de probabilidade. No Estudo I, com o experimento I, analisou-se a dinâmica folicular, utilizando 32 vacas Nelore em fatorial 2x2, com administração (TSuplemento) ou não (TControle) de suplemento de aminoácidos injetável e dois protocolos de sincronização da ovulação: o TBE9, com aplicação de BE no dia 0 e 9, e a IATF realizada 50-56 h após a retirada do dispositivo de progesterona; e o TBE8, similar ao anterior, com a segunda dose de BE no dia 8 e a IATF 48 h após a retirada. No experimento II, verificou-se a eficiência reprodutiva em TControle (n = 48), TSuplemento (n=52), TBE8 (n= 51) e TBE9 (n= 49). No experimento I, não foi observado ($P>0,05$) efeito dos protocolos e do suplemento na dinâmica folicular. O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi 11,06; 10,36; 11,25; 10,18 mm nas vacas do TControle, TSuplemento, TBE8 e TBE9, respectivamente. Os intervalos da taxa de crescimento folicular, da retirada dos dispositivos e da IATF à ovulação foram 0,15 a 0,22 mm/dia; 59,63 a 64,31 h; e 11,26 a 16,26 h, respectivamente. No experimento II, não houve diferença ($P>0,05$) para taxa de prenhez na IATF, no repasse por touros e na acumulada, respectivamente, para TControle (56,25; 38,09 e 72,92%), TSuplemento

(50,00; 65,38; 80,77%), TBE8 (54,90; 52,17; 78,43%); e TBE9 (51,02; 62,00; 75,51%). A administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável e o intervalo de administração do BE à IATF não influenciaram a dinâmica folicular, o intervalo até a ovulação e as taxas de prenhez na IATF, no repasse por touros e na acumulada. No Estudo II, com o experimento I, avaliou-se a dinâmica folicular, utilizando 30 vacas em três tratamentos: TeCG (n=10) – no dia 0, inserção de dispositivo intravaginal de progesterona mais 2 mg BE IM; no dia 8, remoção do dispositivo e aplicação 300 UI de eCG IM, 0,15 mg de PGF_{2α} e 1 mg de BE; no dia 10, realizou-se a IATF 48 h após a remoção do dispositivo; TFSH48 (n=10) – similar ao tratamento anterior, sendo a dose de eCG substituída por 10 mg NIH de FSH-S1 (FSH-p); TFSH42 (n=10) – similar ao TFSH48, sendo a IATF realizada 42 h após a retirada do dispositivo. No experimento II, verificou-se a eficiência reprodutiva em tratamentos similares aos do experimento I: TeCG= 33 vacas; TFSH48= 32 vacas; TFSH42= 32 vacas. No experimento I, não foi observada (P>0,05) diferença na média de folículos por animal (11,93±2,67), no diâmetro do maior (9,63±1,54 mm), no diâmetro do segundo maior folículo (7,20±1,14 mm), na taxa de crescimento do folículo ovulatório (0,07±0,04 mm/h) e na taxa de ovulação (83,33%). Os animais do TeCG apresentaram menor intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (51,40 e 3,40 h, respectivamente). No experimento II, a taxa de prenhez das vacas não diferiu (P>0,05) entre os tratamentos (TeCG= 54,54; TFSH48= 53,12; TFSH42= 62,50%). Portanto, o uso de eCG ou FSH-p não diferenciam em efeitos sobre a dinâmica folicular e eficiência reprodutiva em programas de IATF. No Estudo III, com o experimento I, verificou-se a dinâmica folicular, utilizando 30 vacas: TControle (n=10) – Dia 0, inserção de dispositivo de progesterona + 2 mg de BE; Dia 8, remoção do dispositivo + 112 mg de d-cloprostenol + 1 mg de BE; Dia 10, IATF realizada 44 h após a retirada do dispositivo; TeCG (n=10) – similar ao TControle, com administração no Dia 8 de 300 UI eCG; TFSH (n=10) – similar ao TControle, sendo que no Dia 8 administrou-se 15 mg de FSH-p. No experimento II, avaliou-se a eficiência reprodutiva das vacas em tratamentos similares: TControle (n=49), TeCG (n=50) e TFSH (n=50). Calculou-se a taxa de prenhez das vacas submetidas à re-inseminação que retornaram ao estro de 14 a 45 dias depois da IATF e a taxa de prenhez acumulada. Não foi observado (P>0,05) efeito do tratamento e do dia na dinâmica folicular. O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi de 8,97; 7,59 e 9,38 mm para as vacas do TControle, TeCG e TFSH, respectivamente. O intervalo médio da retirada dos dispositivos e da IATF à

ovulação foi de 49,2 e 5,5 h. No experimento II, não houve diferença ($P>0,05$) na taxa de prenhez por IATF, na re-inseminação e acumulada, respectivamente, para TControle (40,82; 56,25 e 59,18%), TeCG (26,00; 68,42 e 52,00%) e TFSH (38,00; 70,59 e 62,00%). Não foi observado efeito sobre a taxa de prenhez pela adição dos hormônios FSH-p e eCG em protocolo de sincronização da ovulação em vacas Girolando, porém a re-inseminação artificial no período de 14 a 45 dias pós-IATF aumentou a taxa de prenhez. No Estudo IV, com o experimento I, analisou-se a dinâmica folicular, utilizando 40 vacas em fatorial 2x2, constituído da administração ou não de bST-r e dois protocolos: o TBE8, com aplicação de BE nos dias 0 e 8, e a IATF realizada 44 h após a retirada do dispositivo de progesterona; e o TBE9, similar ao anterior, com a segunda dose de BE no dia 9 e a IATF realizada 48 h após a retirada do dispositivo. No experimento II, verificou-se a eficiência reprodutiva das vacas em delineamento e tratamentos similares (TbST, n=99; TControle, n=102; TBE8, n=100; TBE9, n=101). Calculou-se a taxa de prenhez das vacas submetidas à re-inseminação que retornaram ao estro de 14 a 45 dias depois da IATF e a taxa de prenhez acumulada. No experimento I, não foi observado ($P>0,05$) efeito da administração de bST-r e dos protocolos na dinâmica folicular. O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi similar nas vacas do TControle (8,16 mm), TbST (9,51 mm), TBE8 (8,72 mm) e TBE9 (8,95 mm). O intervalo da retirada dos dispositivos e da IATF à ovulação foi 52,38 e 6,12 h. No experimento II, não houve diferença ($P>0,05$) na taxa de prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e na acumulada, respectivamente, para TControle (35,64; 72,22 e 63,37%), TbST (33,33; 64,29 e 60,61%), TBE8 (37,00; 64,29 e 64,00%); e TBE9 (32,0; 62,22 e 60,00%). A administração de bST-r e o intervalo de administração do BE à IATF não influenciaram a dinâmica folicular e o intervalo até a ovulação. As taxas de prenhez na IATF, na re-inseminação e a acumulada foram satisfatórias. No Estudo V, os tratamentos foram: controle (TControle= 17 vacas) e *flushing nutricional* (TFlushing= 17 vacas). No TFlushing, forneceu-se a suplementação energética (1% do peso corporal), 3 dias antes a 18 dias depois do início dos protocolos de superovulação. O condicionamento do ciclo estral e superovulação das vacas foi: Dia 0 - inserção de dispositivo intravaginal de progesterona mais 2 mg de BE IM; Dia 7 – início do tratamento superovulatório com 140 a 164 mg de FSH-p administrado em doses decrescentes; Dia 9 - administrou-se 150 µg de PGF_{2α} IM no período da manhã e foi retirado o dispositivo de progesterona à tarde; Dia 10 – administrou-se 1 mg de BE de manhã; Dia 11 – realizaram-se duas inseminações artificiais após o início do estro com

intervalo de 12 h; no dia 18 - fez-se a coleta dos embriões. A resposta superovulatória, o número total de estruturas, o número de embriões viáveis, não-viáveis e ovócitos não foram afetados pelo incremento nutricional de energia. Coletaram-se cerca de $6,00 \pm 1,15$ e $3,38 \pm 1,19$ estruturas totais, $3,50 \pm 0,82$ e $2,08 \pm 0,85$ embriões viáveis, $0,79 \pm 0,25$ e $0,38 \pm 0,26$ embriões não-viáveis, $0,79 \pm 0,22$ e $0,38 \pm 0,23$ ovócitos por vaca nos TControle e TFlushing, respectivamente. Houve maior presença de mórulas (38,09%) e de blastocistos iniciais (25,00%). Não houve diferenças quanto a quantidade de núcleos de células (TControle= 56,35; TFlushing = 62,69) e de núcleos de células em divisão caracterizados pela metáfase (TControle= 1,27; TFlushing = 1,73) dos embriões viáveis. O incremento nutricional com energia e proteína por curto período em vacas da raça Nelore, não modificou a dinâmica folicular e a resposta superovulatória, no que se refere ao número e à viabilidade das estruturas coletadas.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Vinicio Araujo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2009. **Reproductive efficiency strategies of cows in the use of biotechniques such Artificial Insemination and Embryo Transfer.** Adviser: Ciro Alexandre Alves Torres. Co-Advisers: Giovanni Ribeiro de Carvalho and Théa Míriam Medeiros Machado.

The objective was to evaluate follicular dynamics and reproductive efficiency in Nelore cows with the use of estradiol benzoate (EB) on the synchronization of ovulation associated to injectable amino acids and polypeptides supplementation; verify follicular dynamics and reproductive efficiency of hormonal protocols on the synchronization of ovulation using pFSH for Timed Artificial Insemination (TAI) in Nelore cows; verify follicular dynamics and reproductive efficiency when using gonadotropic stimulating hormones (eCG and pFSH) in protocols of synchronization of ovulation in Girolando cows; to evaluate follicular dynamics and reproductive efficiency with the use of EB associated to recombinant bovine somatotropin (bST-r) on the synchronization of ovulation protocols in Girolando cows and to study the efficiency of association of nutritional *flushing* on the superovulatory response, number, quality and morphology of embryos in Nelore cows. Five studies were conducted. The statistical analysis was performed using SAS[®] 9.0 program with 5% of probability. In the Study I, with the Experiment I, 32 Nelore cows were evaluated by follicular dynamics in a 2X2 factorial arrangement, receiving amino acids and polypeptides (Tsupplementation) or no (Tcontrol). Also, two protocols of synchronization of ovulation were used: TEB9, with EB administration on days 0 and 9 and TAI performed at 50-56 h after progesterone device removal; and TEB8, similar to the first one, but with the second dose of EB on day 8, and TAI performed at 48h after its removal. In the experiment II, reproductive efficiency was evaluated in Tcontrol (n=48), Tsupplementation (n=52), TEB8 (n= 51) and TEB9 (n=49). In the experiment I, there were no effects ($P>0.05$) of the synchronization protocols or of the supplementation on the follicular dynamics. The preovulatory follicle diameter was 11.06; 10.36; 11.25; 10.18 mm for cows in Tcontrol, Tsupplementation, TEB8 and TEB9, respectively. The intervals from follicular growth rate, from devices removal

and from TAI to ovulation were 0.15 to 0.22 mm/day; 59.63 to 64.31 h; and 11.26 to 16.26 h, respectively. In the experiment II, there was no difference ($P>0.05$) for pregnancy rate after TAI, after natural mating or accumulated for Tcontrol= (56.25; 38.09; 72.92%), Tsupplementation (50.00; 65.38; 80.77%), TEB8 (54.90; 52.17; 78.43%) and TEB9 (51.02; 62.00; 75.51%). The administration of injectable amino acids and polypeptides supplementation and the interval from EB administration to TAI did not influence follicular dynamics, the interval to ovulation and the pregnancy rates after TAI, after natural mating and accumulated. In the Study II, with the experiment I, follicular dynamics was evaluated using 30 cows in three treatments: 1) TeCG (n=10) – on day 0, insertion of intravaginal progesterone devices plus 2 mg benzoate of estradiol (BE), intramuscularly (IM); on day 8, devices removal and 300 IU eCG IM, 0.15 mg $\text{PGF}_{2\alpha}$ and 1 mg EB; on day 10, AI was performed 48 h after devices removal; 2) TFSH48 (n=10) – similar to previous treatment, but instead of eCG, 10 mg NIH FSH-S1 (FSH-p) was done; TFSH42 (n=10) – similar to TFSH48, but AI was performed 42 h after devices removal. In the experiment II, reproductive efficiency was evaluated in treatments similar to those of experiment I: TeCG= 33 cows; TFSH48= 32 cows; TFSH42= 32 cows. In the experiment I, it was not observed ($P>0.05$) any difference on the average number of follicles per cow (11.93 ± 2.67), on the diameter of the largest follicle (9.63 ± 1.54 mm), of the second largest (7.20 ± 1.14 mm), in the ovulatory follicle growth rate (0.07 ± 0.04 mm/h) and in the ovulation rate (83.33%). Animals of TeCG showed inferior interval from devices removal and TAI to ovulation (51.40 and 3.40 h, respectively). In the experiment II, conception rate did not differ ($P>0.05$) among treatments (TeCG= 54.54; TFSH48= 53.12; TFSH42= 62.50%). Therefore, the use of eCG or pFSH are similar regarding effects on the follicular dynamics and reproductive efficiency in TAI programs. In the Study III, with the experiment I, follicular dynamics was verified, using 30 cows: Tcontrol (n=10) – Day 0, insertion of progesterone device + 2mg EB; Day 8, devices removal + 112mg d-cloprostenol + 1mg EB; day 10, timed artificial insemination was performed 44 h after device removal; TeCG (n=10) – similar to the previous one, but using on day 8, 300 IU eCG; TFSH (n=10) – similar to Tcontrol, but using on Day 8, 15mg pFSH. In the experiment II, reproductive efficiency was evaluated in cows submitted to similar treatments to those of experiment I: Tcontrol (n=49), TeCG (n=50) and TFSH (n=50). Pregnancy rate after the first, second insemination (cows that showed estrus from 14 to 45 days after timed artificial insemination) and also the accumulated were calculated. There was no difference

($P>0.05$) of treatment effect and of the day of follicular dynamics. The average diameter of preovulatory follicle was 8.97, 7.59 and 9.38 mm for cows of TControl, TeCG and TFSH, respectively. The average intervals from devices removal and from TAI to ovulation were 49.2 and 5.5 h. In the experiment II, there was no difference ($P>0.05$) in the pregnancy rate after the first, second insemination and the accumulated, respectively to Tcontrol (40.82; 56.25 e 59.18%), TeCG (26.00; 68.42 e 52.00%) e TFSH (38.00; 70.59 e 62.00%). It was not observed effect on the pregnancy rate when adding pFHS and eCG hormones to protocols of synchronization of ovulation in Girolando cows, but the second insemination performed from 14 to 45 days after the first one improved the pregnancy rate. In the Study IV, with the experiment I, follicular dynamics was performed using 40 cows in 2 x 2 factorial arrangement, with the administration or not of bST-r and two protocols: TEB8, with the use of EB on days 0 and 8, and TAI performed 44 h after progesterone devices removal; and TEB9, similar to the first one, but with the second dose of EB on day 9 and TAI performed 48 h after its removal. In the experiment II, cows reproductive efficiency in similar treatments (TbST, n= 99; TControl, n=102; TEB8, n=100; TEB9, n=101) were evaluated. Cows that returned to estrus (14 to 45 after TAI) were submitted to a second insemination and pregnancy rate was calculated and also the accumulated pregnancy rate. In the experiment I, it was not observed ($P>0.05$) bST-r or protocols effects on follicular dynamics. The average diameter of preovulatory follicle was 8.16; 9.51, 8.72 and 8.95 mm for cows of TControl, TbST, TEB8 e TEB9, respectively. The average intervals from devices removal and from TAI to ovulation were 52.38 and 6.12 h. In the experiment II, there was no difference ($P>0.05$) for pregnancy rate after TAI (Tcontrol=56.25%; Tsupplementation=50.00%; TEB8=54.90%; TEB9=51.02%), after natural mating (Tcontrol=38.09%; Tsupplementation=65.38%; TEB8=52.17%; TEB9=62.00%), or accumulated (Tcontrol=72.92%; Tsupplementation=80.77%; TEB8=78.43%; TEB9=75.51%). The bST-r administration and the interval from EB administration to TAI did not influence follicular dynamics and the interval to ovulation. Also, pregnancy rate after first TAI, second TAI and accumulated were satisfactory. In the Study V, the treatments were: control (TControl = 17 cows) and *nutritional flushing* (TFlushing = 17 cows). In TFlushing energy supplementation (1% of body weight) was given from 3 days before to 18 days after the beginning of the superovulatory protocol. The conditioning of estrous cycle and superovulation of the cows was: Day 0 – insertion of intravaginal progesterone devices plus 2 mg EB i.m.;

Day 7 – beginning of the superovulatory protocol with 140 to 164 mg FSH-p given in decreasing doses; Day 9 – 150 μg $\text{PGF}_{2\alpha}$ i.m. in the morning and progesterone device was removed in the afternoon; Day 10 – 1 mg EB i.m. in the morning; Day 11 – two artificial inseminations were performed after estrous onset in an interval of 12 hours; Day 18 – embryo collection was done. The superovulatory answer, the total number of structures, the number of viable embryos, nonviables and oocytes were not affected by the energy supplementation. Were collected about 6.00 ± 1.15 and 3.38 ± 1.19 of total structures, 3.50 ± 0.82 and 2.08 ± 0.85 of viable embryos, 0.79 ± 0.25 and 0.38 ± 0.26 of nonviable embryos, 0.79 ± 0.22 and 0.38 ± 0.23 of oocytes per cow in TControl and TFlushing, respectively. A greater presence of morula (38.09%) and of initial blastocytes (25.00%) were found. There were no differences on the quantity of cell nucleus (TControl = 56.35; TFlushing = 62.69) and on nucleus of dividing cells characterized by metaphase (TControl= 1.27; TFlushing = 1.73) from viable embryos. The protein and energy supplementation in a short period in Nelore cows did not alter follicular dynamics and the superovulatory answer, in terms of number or viability of the collected structures.

INTRODUÇÃO GERAL

A alta idade à puberdade e o anestro pós-parto em fêmeas de bovinos de corte e de leite representam importantes variáveis negativas na exploração pecuária da espécie. Os dois itens estão associados a diferentes fatores que envolvem aspectos nutricionais e neuroendócrinos. Com isso, o conhecimento e a aplicação das biotécnicas Inseminação Artificial (IA) e Transferência de Embriões (TE), associadas à administração de hormônios para o controle endócrino da fisiologia reprodutiva das fêmeas e ao correto manejo nutricional, são alternativas para a solução do problema. Somando que a difusão das biotécnicas contribui para incremento no melhoramento genético dos rebanhos e, conseqüentemente, para o desenvolvimento do agronegócio da pecuária.

A detecção do estro é o principal fator que influencia a IA em bovinos, gerando baixa taxa de serviço, sobretudo em rebanhos *Bos taurus indicus* (Baruselli et al., 2004). O uso da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) tem aumentado expressivamente no Brasil em decorrência das facilidades de realização dos programas de IA a campo e dos resultados obtidos serem cada vez mais compensadores. O emprego de associações hormonais (progestágenos; prostaglandina - $PGF_{2\alpha}$; hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH; gonadotrofina coriônica humana – hCG; gonadotrofina coriônica eqüina – eCG; hormônio folículo estimulante – FSH; benzoato de estradiol – BE) em protocolos de IATF induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controla a duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório e induz a ovulação. Os exames ultrassonográficos para determinação da dinâmica folicular em protocolos de sincronização de ovulação são importantes para a visualização dos efeitos dessas associações hormonais por determinar o momento ideal de inseminação, aumentando a probabilidade de concepção, de acordo com o protocolo utilizado.

A TE em bovinos adotada por proporcionar maior produção de descendentes de fêmeas de alto valor genético (até 20 bezerras/ano), também por aumentar o número de descendentes do macho, ganhou considerável popularidade entre criadores brasileiros das raças zebuínas.

O Brasil está consolidado como o maior produtor de embriões bovinos no mundo (Thibier, 2005; Viana, 2006; Viana e Camargo, 2007). Houve dois fatores que contribuíram para este avanço do Brasil na TE: o mercado altamente favorável, devido aos investimentos em animais de elite pelos pecuaristas, e o sistema de produção no

qual a técnica é utilizada, que conta com universo maior de doadoras e receptoras disponíveis.

A aplicação de estratégias para eficiência reprodutiva de fêmeas de corte e de leite com uso das biotécnicas Inseminação Artificial e Transferência de Embriões, traduz em gerar aperfeiçoamento das biotécnicas IATF, difundir conhecimento para a aceitação dos produtores a fim de assegurar investimento em biotecnologias amplo e seguro para o melhoramento genético e, conseqüente, aumento de produção de carne ou de leite. Assim, objetiva-se avaliar estratégias hormonais relativo à IATF de fêmeas de bovinos de corte e de leite e estratégia nutricional relativa à transferência de embriões em vacas de corte.

REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo e conta com um rebanho de 170 milhões de cabeças (Anualpec, 2008). Destas, 68 milhões são fêmeas (vacas e novilhas) responsáveis pela alimentação dos sistemas de produção pela oferta de bezerros, para recria e engorda. Mesmo com estes dados, os índices zootécnicos são desafios ao setor de cria dos sistemas de produção e neste segmento o manejo reprodutivo se apresenta como a característica de maior impacto econômico, demandando, portanto, maior atenção dos profissionais que atuam nesta área. O desenvolvimento de tecnologias que possam ser utilizadas nos sistemas de produção com conseqüente aumento no desempenho reprodutivo e que produzam impacto econômico positivo sobre os sistemas de produção são fundamentais para o bom desempenho do setor (Galvani, 2009).

Na pecuária leiteira, a lucratividade dos sistemas de produção está diretamente relacionada com o período de serviço e com o intervalo de partos, uma vez que a ampliação diminui o número de crias, a produção média de leite e quilogramas de bezerros por dia de vida útil da vaca, e esses são fatores mais importantes para a economia do sistema do que a produção total de leite na lactação. O melhor desempenho reprodutivo depende de animais que iniciam a vida reprodutiva e que tenham o primeiro parto à idade mais precoce, dentro dos limites fisiológicos que não comprometam o desempenho futuro, e que reiniciem a atividade ovariana em curto período pós-parto. Assim, pode-se obter maior produção de leite e de crias durante a vida produtiva do animal (Borges et al., 2009).

O rebanho brasileiro é composto predominantemente (74%) por animais

mestiços Holandês x Zebu (Vilela, 2003) que, somados aos animais considerados não especializados (20%), atingem 94% do rebanho. Isto demonstra a importância social e econômica de vacas mestiças para o país, e sua exploração aparece como alternativa viável para diversos sistemas de produção que buscam redução no custo de produção a partir de animais mantidos em regime de pastejo (Ruas et al., 2008), visto que possuem características desejáveis que lhes conferem rusticidade, capacidade produtiva e adaptação às limitações prevalentes na maioria das fazendas, bem como por sua maior resistência e boa produtividade, o que não dispensa a necessidade de práticas adequadas de manejo e alimentação (Ferreira et al., 1996).

1. Inseminação artificial

A quantidade e qualidade dos alimentos na nutrição bovina são importantes para produção animal, pois os nutrientes ao serem absorvidos são destinados às prioridades estabelecidas: metabolismo basal, atividades (andar, deitar, etc.), crescimento, reservas corporais básicas, lactação, acúmulo de reservas corporais, ciclo estral e início da gestação. A disposição dos nutrientes absorvidos para a atividade reprodutiva só é completada após as prioridades anteriores terem sido atendidas. Isto porque as funções fisiológicas para manutenção e para lactação têm prioridade sobre as funções reprodutivas. Portanto, baixos níveis nutricionais afetam o desenvolvimento pré-púbere e são deletérios no retorno da atividade ovariana pós-parto.

Diversos hormônios metabólicos parecem exercer importante papel no controle da função ovariana dos mamíferos, agindo como mediadores ou sinalizadores dos efeitos da ingestão de alimento e do balanço energético (BEN) sobre a fertilidade de bovinos. As variações metabólicas (glicose, uréia, ácidos graxos não esterificados-AGNE, β -hidroxibutirato) e hormonais (insulina, GH, fator de crescimento semelhante à insulina I e II - IGF-I e II), durante o BEN, podem comprometer a fertilidade dos animais, por meio de suas ações diretas sobre o ovócito, fluido folicular, secreções da tuba uterina e útero que, por sua vez, prejudicam a saúde e a sobrevivência dos embriões (Leroy, 2005). O importante é conhecer as interações fisiológicas nas fêmeas de bovinos para então usar estratégias para solucionar as questões referentes à eficiência reprodutiva.

Os estrógenos (E_2) agem sobre o sistema nervoso central (SNC) induzindo o comportamento do estro, induzindo um pico de LH via *feedback* e sincronizando a ovulação; porém, pequenas quantidades de progestágenos associados são necessárias

para indução do estro. A aplicação de 0,5 a 1,0 mg de benzoato de estradiol (BE) 24 horas após a retirada dos implantes de P₄ (CIDR) sincroniza o estro e a ovulação, aumentando inclusive a porcentagem de fêmeas bovinas que ovulam após o tratamento (Macmillan, 1999).

O estradiol induz a regressão do corpo lúteo, provoca atresia dos folículos presentes no ovário, além de inibir a secreção do FSH-p, sendo este último efeito potencializado pela inibina (Bo et al., 1994; Wiltbank, 2000). A aplicação de BE, como primeira dose, tem como objetivo induzir a regressão do folículo dominante para que uma nova onda folicular se inicie. A segunda dose de BE induz a onda pré-ovulatória de LH, estro e ovulação. Uma vez baixo o nível de P₄ (<2ng/mL), o estradiol passa a ter um efeito positivo na liberação de LH (Macmillan, 1999).

Wiltbank et al. (1961) demonstraram que 5 mg de estrógeno (estradiol, E₂) induziram regressão luteal em vacas. Outros pesquisadores verificaram que o tempo de um tratamento com P₄ para sincronização do estro pode ser encurtado com uma aplicação de E₂ no início do tratamento (Odde, 1990). Bo et al. (1995b) mostraram que o estradiol em conjunto com tratamento de progesterona anulou o crescimento dos folículos dominantes. Bo et al. (1995a) demonstraram ainda que quando o estradiol-17β foi administrado em vacas com implante de P₄ nos dias 3, 6 ou 9, uma nova onda folicular emergiu 4 dias após. Barros et al. (2000) e Fernandes et al. (2001) observaram que a segunda aplicação de GnRH do protocolo Ovsynch (GnRH-7d PGF_{2α}-48h GnRH-20 a 24h IATF) pode ser substituída por 17β-estradiol sem afetar a sincronização. Tem-se observado que o BE administrado em vacas com baixos níveis de P₄ induz uma onda de LH em aproximadamente 16 a 24 horas depois (Bó et al., 1994).

A redução do intervalo de partos aumenta o número de partos e a produção de leite durante a vida produtiva da vaca. O intervalo de parto de 12 a 13 meses traz benefícios econômicos, mas é difícil de ser obtido devido aos problemas de manejo associados ao ciclo reprodutivo da vaca (Holmann et al., 1984; Schmidt, 1989).

Segundo Gyawu et al. (1991) o dispositivo intravaginal de progesterona (PRID) associado a BE e cloprostenol resultou em significativa sincronia das taxas de ovulação e prenhez. Os autores concluíram que o cloprostenol aumentou a eficiência porque o BE não foi efetivo em induzir luteólise. Martinez et al. (1998) observaram que novilhas tratadas com CIDR por 7 dias, cloprostenol no dia da remoção do CIDR mais 1 mg de BE um dia após a remoção do CIDR e inseminadas 30 horas depois tiveram altas taxas de prenhez. Este tratamento foi repetido em outros experimentos usando novilhas e vacas em lactação, comparando o BE na dose de 1 vs 5 mg, sendo ambos efetivos (60%

de taxa de prenhez), sem diferença entre novilhas e vacas.

Protocolos de sincronização da ovulação em vacas associam hormônios GnRH e PGF_{2α} (Twagiramungu et al., 1995; Pursley et al., 1997a; Thatcher et al., 2001). Pursley et al. (1995), empregando o protocolo ovsynch (OVS), com injeção de GnRH em vacas e novilhas, injeção de PGF_{2α} sete dias após e, posteriormente, 24 e 48 horas, a segunda injeção de GnRH, nas novilhas e vacas, respectivamente, verificaram que a dose inicial de GnRH causou uma nova onda folicular em 90% das vacas e em 50% das novilhas. A segunda dose de GnRH sincronizou a ovulação num período de oito horas em 100% das vacas e em 75% das novilhas. Pursley et al. (1997b) observaram que novilhas tratadas com GnRH- PGF_{2α}-GnRH tinham menor taxa de prenhez que novilhas tratadas com duas injeções de PGF_{2α}.

A administração de benzoato de estradiol em vacas predetermina a ovulação para aproximadamente 44,16±2,21 horas depois (Barros et al., 2000). Vacas (Fike et al., 1997) e novilhas (Johnson et al., 1997 citado por Lammoglia et al., 1998) tratadas com progesterona (P₄) por meio do dispositivo intravaginal por 7 dias, associado a uma aplicação de benzoato de estradiol (BE) 24 a 30 horas após a remoção do dispositivo, aumenta o número de fêmeas com sinais de estro, comparado às não tratadas ou tratadas somente com P₄. Aplicações de BE aumentam não somente a indução do estro ou da ovulação mais também a sincronização (Peters et al., 1977; Macmillan e Burke, 1996). Uma injeção de BE em novilhas e vacas 24 ou 72 horas após o fim de um tratamento com P₄ de 9 a 14 dias, induziu o estro e a ovulação sem diminuir a taxa de prenhez (Ulberg & Lindley, 1960; Saiduddin et al., 1968; Brown et al., 1972).

Lammoglia et al. (1998) observaram que novilhas e vacas tratadas com BE tiveram um intervalo tratamento-início do estro mais curto que animais não tratados. Oitenta e nove por cento das novilhas tratadas com BE apresentaram no intervalo tratamento-início do estro de 36 a 48 horas após a remoção do implante de P₄ e, 100% das vacas apresentaram estro no intervalo de 48 horas. A sincronia do estro em novilhas e vacas 24 a 48 horas após a remoção do implante foi comprovada pelo perfil endócrino dos animais. Oitenta e oito por cento das vacas tratadas com BE ficaram prenhes com a inseminação realizada até 48 horas após a remoção do implante. Oitenta e um por cento das vacas estavam em anestro no início do tratamento, sugerindo que 1 mg de benzoato de estradiol nas 24 a 30 horas após remoção do implante induz um estro fértil em vacas em anestro no pós-parto.

Stevenson et al. (1999) verificaram maior efetividade do GnRH para induzir a ovulação ou luteinização nas vacas em anestro que tinham maior período pós-parto e

notou-se 55,5% e 82,3% de vacas em estro nos tratamentos 2xPGF_{2α} e GnRH + PGF_{2α}, respectivamente. Para cada unidade de aumento na condição corporal próximo aos 48 a 68 dias de lactação (10 dias antes da IA), a taxa de concepção aumentou 10□4%.

Cartmill et al. (2001) observaram que vacas tratadas com PGF_{2α}+OVS apresentaram menor taxa de progesterona no dia -3 e tiveram maior taxa de sincronização pela interação tratamento vs ciclo estral. Vacas em anestro tratadas com 2 aplicações de PGF_{2α}+GnRH tiveram baixa taxa de sincronização. Não houve diferença significativa na taxa de prenhez quando comparado os estádios do ciclo após OVS e PGF_{2α}+OVS. A taxa de prenhez para vacas em anestro foi 22 % para OVS, 34% para PGF_{2α}+OVS e 20% para 2xPGF_{2α}+GnRH.

Na sincronização da ovulação com Ovsynch, as taxas de concepção são maiores em vacas primíparas que em múltiparas (Stevenson et al., 1996; Cartmill et al., 2001; Tenhagen et al., 2001; Peters & Pursley, 2002; Tenhagen et al., 2003) e Pursley et al. (1997a) observaram redução da média do período de serviço.

Peters & Pursley (2003) verificaram taxa de sincronização de 89% e 85%, taxa de prenhez de 31,3% e 14,7% nos tratamentos OVS (n=85) e numa versão modificada do OVS (GnRH, PGF_{2α} no sétimo dia, GnRH 48 após a PGF_{2α}, depois de 16 a 18 horas IATF, n=85), respectivamente. No segundo tratamento, em diferentes tempos de aplicação da segunda dose de GnRH após a PGF_{2α} notaram que a administração de GnRH 24 horas ou menos pode reduzir a taxa de prenhez. Alvarez et al. (2003) observaram que a taxa de concepção dos animais inseminados com tempo fixo (41,4%) não diferiu dos inseminados no cio induzido (53,1%) ou natural (49,1%). Oitenta por cento das vacas do tratamento OVS prenhes foram observadas em estro no momento ou num desvio de 12 horas à IA, apresentando concentração de níveis de progesterona abaixo de 1 ng/ mL na IA. As vacas vazias (32%) apresentaram concentrações de progesterona acima de 1 ng/ mL neste período. A taxa de prenhez foi 64,5; 74 e 76,7% nos tratamentos controle, PGF_{2α} e OVS, respectivamente.

O hormônio eCG (gonadotrofina coriônica eqüina), também denominado PMSG (gonadotrofina do soro de égua gestante), é uma glicoproteína produzida pelos cálices endometriais de éguas, notadamente entre os 40 e 120 dias de gestação (Ginther, 1979). Cole e Hart (1930) foram os primeiros a demonstrar a substância gonadotrópica no soro de égua prenhe. Allen e Moor (1972) demonstraram que os cálices endometriais que produzem o eCG são de origem placentária. Assim, deriva o nome gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). Em relação a outros hormônios gonadotróficos, o eCG apresenta a singularidade de possuir atividade foliculo estimulante (FSH-p) e

luteinizante (LH) na mesma molécula (Papkoff, 1974). O eCG, ainda, em virtude a sua estrutura, reage muito bem com receptores de LH no bovino, os foliculares e os do corpo lúteo (Stewart e Allen, 1981).

Uma alternativa para aumentar taxas de prenhez em programas de IATF em vacas *Bos indicus* em anestro pode ser a adição de 300-500 UI de eCG no momento da remoção do implante de progesterona (Roche et al., 1992, Macmillan & Peterson, 1993; Macmillan e Burke, 1996; Aleixo et al., 1995).

Chupin & Saumande (1979) avaliaram um tratamento para o controle do ciclo estral junto a uma baixa dose de eCG. Este tratamento consistiu de um implante de progestágeno (Norgestomet[®]) por 9 dias, com uma injeção de 5 mg de valerato de estradiol ao começo do tratamento e 0,5mg de análogo de prostaglandina dois dias antes da remoção do implante. No primeiro experimento, 500 UI de eCG foram injetadas dois dias antes (n = 61 vacas) ou na remoção do implante (n = 62 vacas). Os índices de prenhez foram altos e similares nos dois tratamentos (67,2 e 67,7% respectivamente), com uma percentagem maior de gêmeos no grupo que recebeu o eCG dois dias antes da remoção do progestágeno. O efeito do dia da aplicação de prostaglandina, relativo ao do eCG, demonstrou que a eficiência da aplicação do eCG dependeu na duração da estimulação. Os autores compararam o tratamento hormonal anteriormente descrito com o tratamento de eCG e um análogo de prostaglandina em vacas da raça Normanda, amamentando. Em ambos os casos, o eCG (600 UI) e o análogo de prostaglandina foram aplicados juntos. Observaram-se maiores taxas de ovulação (medidas por palpção retal), no caso da aplicação em conjunto destas substâncias, nos dois dias anteriores da remoção do progestágeno.

Cutaia et al. (2003) observaram taxa de prenhez maior no tratamento eCG+BE (PRID+2 mg de BE, oito dias após remoção do PRID e PGF_{2α}+eCG+BE, 52 a 56 horas após IATF) do que no grupo eCG (PRID+2 mg de BE, oito dias após remoção do PRID e PGF_{2α}+eCG, depois de 24 horas 1 mg de BE, 28 a 32 horas após IATF). Baruselli et al. (2003) nos mesmos tratamentos, alterando o uso do CIDR-B pelo PRID, observaram maior taxa de prenhez no grupo eCG+BE do que no grupo BE. A combinação de eCG+BE aumentou a taxas de prenhez e seus efeitos foram evidentes em vacas em anestro.

Duffy et al. (2004) descreveram que eCG e BE são igualmente efetivos na indução do estro após remoção do implante de progesterona, mas o uso de eCG resultou em aumento significativo na taxa de ovulação em vacas tratadas antes da seleção do folículo dominante. Mialot et al. (2003) relataram taxas de prenhez similares com os

protocolos de sincronização PRID+PGF_{2α}+eCG (n=174) e OVS (n=166), 53,8 e 46,3%, respectivamente. A taxa de ovulação diferiu significativamente nas vacas que estavam em anestro, 90,8% das vacas do tratamento PRID+PGF_{2α}+eCG e 77,1% do tratamento OVS.

O emprego do eCG tem-se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, em animais recém paridos (período pós parto inferior a 2 meses) e em animais com condição corporal comprometida (Bastos et al., 2004; Baruselli et al., 2004; Duffy et al., 2004), como também, em novilhas pré-púberes e púberes (Larocca e Martinez, 1983).

Silveira et al. (2005) realizaram a dinâmica folicular do sistema hormonal desenvolvido (MAP+BE+eCG+GnRH), verificando-se que o emprego do eCG, nas 24 h da retirada do MAP, possibilitou maior crescimento folicular, resultando em diferença na curva de crescimento e maior diâmetro do folículo dominante ao momento do emprego do GnRH, comparado aos demais grupos. Os folículos alcançaram um diâmetro médio de 13 mm nas 72 horas da aplicação do eCG. Os autores avaliaram também o desempenho de diferentes doses dessa gonadotrofina exógena. Foram testadas as doses de 300 UI, 400 UI e 500 UI aplicadas no mesmo momento (24 h da retirada do MAP). Os resultados de prenhez nos grupos 78,7% (214/272; G300 = 76,9%, 70/91; G400 = 80,0%, 68/85; G500 = 79,2%, 76/96; não mostraram diferença significativa. A manifestação média de estro dos grupos, nas 48h da retirada do MAP, ficou em 55,9% (152/272) e a ocorrência de partos gemelares em 4.4% (12/272). A possibilidade da redução da dose de eCG (300 UI) permite diminuir os custos do sistema empregado, sem comprometimento do seu desempenho.

O hormônio folículo estimulante (FSH-p) estimula o crescimento e a maturação do folículo ovariano ou folículo de Graaf. O FSH-p por si só não causa secreção de estrógenos pela camada da granulosa do folículo ovariano, ao contrário, necessita da presença do LH para estimular a produção estrogênica.

O FSH-p e o eCG com ação folículo estimulante são os principais produtos comerciais na superovulação dos animais domésticos. As preparações comerciais de FSH-p é purificada da hipófise do suíno (FSH-p). A base de sua ação é a de ligação e ativação de receptores de FSH-p nas células da granulosa, principalmente dos folículos de tamanho médio e pequenos, estimulando o crescimento contínuo desses, provavelmente pelo fato de inibir a apoptose (Armstrong, 1993).

A preparação de FSH-p, consiste em uma combinação de moléculas de FSH-p e LH em uma proporção que varia em torno de 0,3 a 1,0 (Chupin & Saumande, 1979;

Chupin et al., 1984). Uma característica desta preparação é seu baixo conteúdo de ácido siálico, ao contrário do que apresenta o eCG. Este baixo conteúdo em ácido siálico confere ao FSH-p uma média vida curta *in vivo*. Por isso, o emprego na TE deve ser em doses repetidas (Gay et al., 1970). Ao contrário, o eCG é um fármaco de meia vida longa, cuja duração pode chegar até 3 dias (Murphy & Martinuk, 1991).

O FSH-p atua pela ligação aos receptores específicos, localizados especificamente nas gônadas. O receptor de FSH-p pertence à família dos receptores de proteína G, proteínas do complexo transmembrana caracterizadas por sete hélices hidrofóbicas inseridas no plasmalema e pelos domínios intra e extracelulares de dimensões variáveis dependendo do tipo de ligação (Gudermann et al., 1995). A porção intracelular do receptor de FSH-p é ligada à proteína Gs e, na ativação dos receptores pela interação hormonal com o domínio extracelular, inicia a cascata de eventos que leva aos efeitos biológicos específicos da gonadotropina (Simoni et al., 1997). O crescimento de folículos ao redor de 2 mm é independente do FSH-p, visto que, Braw-Tal & Yossefi (1997) observaram o crescimento de folículos primordiais *in vitro* na ausência de FSH-p. No entanto, existem evidências de que receptores para o FSH-p seriam ativos funcionalmente, durante o desenvolvimento pré-antral. Em ovários bovinos, fetais e adultos, a expressão desses receptores foi detectada em folículos, apresentando uma ou duas camadas de células da granulosa (Xu et al., 1995; Perry et al., 2000), e a ligação do FSH-p foi observada em células da granulosa de folículos primários (Wandji et al., 1992).

Secções corticais ovarianas de ratas em cultivo, quando adicionado FSH-p e hCG, mostraram um aumento no número de folículos com mais de seis camadas de células da granulosa e com a presença das células da teca, sugerindo que o receptor para o FSH-p em folículos pré-antrais foi capaz de iniciar os mecanismos de sinal de tradução (Parrot & Skinner, 1999). Os folículos antrais, com diâmetro ≥ 2 mm, são responsivos ao FSH-p demonstrado pela ocorrência de ondas de crescimento folicular (Webb et al., 1999).

Santos et al. (2007a) avaliaram se uma única dose de FSH-p promoveria o crescimento do folículo dominante até o estágio pré-ovulatório em protocolos de IATF, com capacidade de responder a indução de ovulação. Utilizaram vacas Nelore em anestro, entre 40 e 55 dias pós parto, comparando diferentes doses de FSH-p com 400 UI eCG, não houve efeito do tratamento para o momento da ovulação, crescimento folicular diário e diâmetro máximo do folículo dominante, entretanto, os resultados desse experimento mostram que, assim como o eCG, uma única dose de FSH-p,

aumentou a taxa de ovulação.

Santos et al. (2007b) compararam as taxas de prenhez de vacas em anestro sincronizadas com protocolos de IATF. Utilizando vacas zebuínas com escore de condição corporal entre 2,5 a 3,0 (escala de 1 a 5) e entre 40 à 55 dias pós parto, obteve taxas de prenhez de 29,9% para o tratamento controle sem FSH-p e eCG, 60,2% para 400 UI eCG, 59,7% para 10 mg FSH-p e 58,5% para 20 mg de FSH-p. Os autores concluíram que é possível utilizar FSH-p como indutor de crescimento folicular em programas de IATF em vacas zebuínas em anestro com a mesma eficácia que o eCG.

Os índices de produtividade da pecuária leiteira permanecem baixos há várias décadas. Entre os fatores que contribuem para tal situação, cita-se a demora no retorno da atividade ovariana no pós-parto. Wishart et al. (1977), ao estudarem os efeitos da nutrição, peso e condição corporal sobre a fertilidade de vacas tratadas com norgestomet e valerato de estradiol, observaram maior porcentagem de fêmeas gestantes na presença de suplementação energética, calculada para se obter ganho de peso a partir de 12 semanas antes do tratamento. A insuficiente ingestão de nutrientes via dieta inadequada é causa comum de infertilidade ao atrasar a puberdade e prolongar o anestro após o parto, por bloqueio da atividade ovariana (Ferreira, 1993).

A sincronização do estro e da ovulação ocasionam aumento de retorno econômico pela uniformidade de nascimento de bezerros, curta estação de reprodução, produção de leite programada, racionalização do uso de touros ou IA, etc.

Segundo Ferreira (1995), as principais causas do anestro prolongado pós-parto são o baixo escore de condição corporal (CC) ao parto e a excessiva perda de peso nos dois a três primeiros meses da lactação em animais com CC regular ou bom ao parto. Desta forma, CC bom ao parto e manutenção ou perda de pouco peso até dois a três meses pós-parto são condições indispensáveis para o rápido reinício da atividade ovariana luteal cíclica (AOLC) no pós-parto. Para alcançar a meta desejável de intervalo de partos próximo de 12 meses, torna-se necessário que a vaca manifeste o estro e conceba até 90 dias pós-parto (Ferreira, 1991).

Ferreira et al. (2000) verificaram que em vacas Girolanda, múltíparas, com CC bom ao parto, a perda de até 15,2% e 16,3% do peso vivo do parto a 90 e 180 dias pós-parto, respectivamente, não impede o reinício da atividade ovariana luteal cíclica. A perda média de até 1,0 unidade do escore de condição corporal do parto a 90 dias pós-parto, em vacas parindo com boa condição corporal (CC=4), não afeta o reinício da atividade ovariana luteal cíclica pós-parto em vacas da raça Girolando.

A condição corporal da vaca ao receber o tratamento com progestágeno é fator

determinante na sua resposta ao fármaco (Almeraya & Hidalgo, 1992). A maior ou menor influência da nutrição sobre a reprodução está na dependência de fatores como intensidade e duração da restrição alimentar, CC, idade e estado fisiológico. Ruas et al. (2005) verificaram que o norgestomet teve efeito positivo sobre o retorno à atividade ovariana cíclica, independentemente do peso corporal. A hormonioterapia antecipou a concepção em vacas mestiças mais pesadas em 30 dias, embora não tenha interferido na produção de leite, na duração da lactação e na taxa de fertilidade. Conseqüentemente, o retorno para o produtor com a utilização do tratamento hormonal pode advir da redução do intervalo de partos, que resultará em maior número de bezerros produzidos durante a vida produtiva da vaca.

As somatomedinas, principalmente o Fator de Crescimento Semelhante à Insulina (IGF-I), produzidas pelos hepatócitos, mediam a ação da somatotropina bovina (bST, Armstrong et al., 1995; Chalupa et al., 1997), de forma direta e indireta por: acentuar o crescimento do corpo lúteo e a secreção de P₄ durante a fase luteínica do ciclo estral (Collier & Vinici, 1996); aumentar a concentração periférica de IGF-I; aumentar a população dos folículos antrais pequenos (Pavlok et al., 1996); estimular a maturação de oócitos (Izadyar et al., 2000); favorecer o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária; e, estimular a atividade secretória das glândulas endometriais (Thatcher et al., 2001).

A utilização da somatotropina bovina (bST) em doadoras, no início do ciclo estral, vem sendo pesquisada com o objetivo de aumentar a população de folículos antrais recrutados e, conseqüentemente, melhorar a resposta superovulatória (Gong et al., 1996). Estudos *in vivo* em raças bovinas européias de corte demonstraram que injeções de bST recombinante (bST-r) induzem o aumento da população de folículos antrais com diâmetro entre 2 e 5 mm (Gong et al., 1996).

Moreira et al. (2000) analisaram o efeito da bST sobre a taxa de prenhez em protocolo de IATF, e testaram a sincronização em dois serviços consecutivos. Utilizaram 403 vacas Holstein em lactação distribuídas nos seguintes tratamentos: animais tratados com bST (500 mg) iniciado 63±3 dias pós-parto concomitantemente com a iniciação do protocolo de IATF, ou animais com administração de bST iniciada aos 105±3 dias pós-parto. Aos 63±3 dias pós-parto, todas as vacas receberam GnRH (100µg), uma injeção de PGF_{2α} (25 mg) 7 dias depois, e uma injeção de GnRH 48 horas após a injeção de PGF_{2α} e foram inseminadas na hora 16 e 20. Vacas foram re-inseminadas se detectadas em cio ou re-sincronizadas com injeção de GnRH 20 horas após a inseminação. Aos 27 dias após a inseminação as vacas foram examinadas para

diagnosticar a prenhez. Vacas re-sincronizadas diagnosticadas não prenhes receberam uma injeção de PGF_{2α} e foram inseminadas ao se detectar o cio ou receberam uma injeção de GnRH 48 horas após a injeção de PGF_{2α} e foram inseminadas na hora 16 e 20 após esta aplicação. Vacas prenhes diagnosticadas no dia 27 eram reexaminadas para prenhes novamente no dia 45 após a inseminação. A taxa de prenhes ao primeiro serviço aos 45 dias foram aumentadas nas vacas não sincronizadas que iniciaram tratamento com bST aos 63±3 dias pós-parto comparado com as vacas que iniciaram o tratamento com bST aos 105±3 dias pós-parto (37,7±5,8% e 22,1±4,2%, respectivamente), mas o efeito do tratamento com bST não foi observado quando as vacas foram re-sincronizadas (25,6±4,3% e 25,8±5,5%, respectivamente). O desempenho reprodutivo de vacas primíparas e multiparas não foi afetado pelo uso de bST quanto aos dias até a primeira inseminação, dias abertos, percentual de prenhez, perda fetal, ovários císticos, partos múltiplos ou período de gestação. Portanto, o uso de bST aumentou a taxa de prenhez em protocolo de IATF.

Moreira et al. (2001) observaram que tanto o tratamento de pré-sincronização, quanto a administração de bST aumentaram com sucesso as taxas de prenhez do primeiro serviço do protocolo de IA programada. Não houve indicações de que a bST reduzisse a fertilidade de vacas em lactação submetidas a um protocolo de IA programada que elimina detecção de cio. A administração de bST no início do protocolo de IA programada ou na inseminação foi igualmente benéfica em termos de taxas de prenhez, indicando que a bST provavelmente aumenta a fertilidade de vacas leiteiras em lactação por efeitos sobre a maturação de oócitos, desenvolvimento embrionário e (ou) alterações das funções do útero e do oviduto. Foram observadas maiores taxas de prenhez em vacas pré-sincronizadas porque foi planejado que as vacas iniciassem o protocolo de IA programada no início da fase de diestro do ciclo estral. Podem ser usados outros sistemas de pré-sincronização para o mesmo propósito, se uma frequência maior de vacas for planejada para iniciar o protocolo de IA programada no início da fase lútea. A incidência de anestro tem grande influência sobre as taxas gerais de prenhez, assim são necessárias mais pesquisas para melhorar o manejo de vacas em lactação para diminuir a frequência de vacas em anestro no segundo mês da lactação.

Aleixo et al. (2005) verificaram que a somatotropina recombinante bovina administrada no 60º dia pós-parto, não exerceu significativa influência sobre a atividade ovariana de vacas leiteiras, muito embora tenha havido aumento da produção leiteira diária em 3,5%. Os estudos da dinâmica folicular e da somatotropina recombinante bovina não apontaram dados de que tenha havido diferenças significativas no tocante ao

comprimento do ciclo estral, ao diâmetro dos ovários, ao número de ondas foliculares, ao comprimento de cada onda, ao número e ao diâmetro dos folículos recrutados entre os grupos de animais.

2. Transferência de Embriões

A idéia de fazer uma fêmea conceber um embrião coletado de outra da mesma espécie é bastante antiga e os coelhos foram os animais selecionados por Heape (1890), citado por Hafez (2000), para realizar a primeira transferência. Na espécie bovina a primeira transferência de embriões (TE) foi realizada na metade do último século por Willet et al. (1951), citado por Reichenbach et al. (2001).

O ciclo estral de bovinos apresenta duas ou três ondas de crescimento folicular (Savio et al., 1988; Sirois & Fortune, 1988; Ginther et al., 1989) e, eventualmente, uma ou quatro (Sirois & Fortune, 1988; Rhodes et al., 1995; Figueiredo et al., 1997). Na emergência de uma onda folicular um dos folículos é selecionado tornando-se dominante e continua o crescimento, enquanto demais regridem e se tornam atresícos (Reichenbach et al., 2001). Um dos mecanismos essenciais para a divergência folicular (início da maior diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos da onda) é a diminuição da concentração de FSH-p plasmático (Ginther et al., 1999). A capacidade do folículo dominante em continuar o crescimento após o declínio da concentração de FSH-p, pode ser decorrente do aumento da biodisponibilidade do Fator de Crescimento Semelhante à Insulina do Tipo 1 (IGF-1) no folículo, da expressão de RNA mensageiro (RNAm) do receptor de Hormônio Luteinizante (LH) e da expressão de receptores de LH nas células de granulosa, que conferem maior responsividade ao LH em relação aos folículos menores (Crowe, 1999).

O tratamento superovulatório suprime a deficiência de FSH, neutralizando os efeitos da dominância folicular, impedindo a divergência e permitindo o desenvolvimento simultâneo de vários folículos (Reichenbach et al., 2001).

A partir de dados que consideram todas as doadoras superovuladas, independentemente de não terem manifestado estro, ou não terem sido coletadas devido à falta de resposta ovariana, Alvarez (2009) cita que em 1979, a média de embriões recuperados era de 4,6 contra 4,8, vinte anos depois (Hasler, 2003). Segundo Silva et al. (2008) o número de embriões utilizáveis varia entre 0, menos que 3, de 3 a 6 e mais que 6 com distribuição relativa a 20, 10, 45 e 25% das doadoras, respectivamente.

Assumindo-se uma boa competência do técnico que executa a TE, os principais

fatores que afetam a taxa de prenhez são a qualidade do embrião e da receptora. Em muitas operações comerciais, a taxa de sucesso com TE freqüentemente excede 70%. Porém, o planejamento de um programa de TE deve considerar cifras mais modestas (da ordem de 50%), mesmo quando em determinadas ocasiões sejam alcançadas taxas de prenhez da ordem de 80% após a transferência de embriões frescos de boa qualidade em receptoras idôneas (Alvarez, 2009).

A qualidade do embrião é sabidamente um fator de grande relevância na taxa de prenhez. Contudo, os técnicos que trabalham nas fazendas (ou mesmo nas centrais de TE) têm pouca escolha com relação a esta variável no momento de realizar a transferência. De forma geral, para cada coleta de embriões são preparadas entre 5 e 10 receptoras, as quais serão utilizadas, mesmo com embriões de qualidade medíocre. Isso se explica pelo fato que, excluindo o valor do embrião, o custo de manutenção e preparo das receptoras é provavelmente o fator que mais onera um programa de TE.

2.1. Superovulação

Os protocolos hormonais utilizados para promover a superovulação nas doadoras apresentam respostas variáveis (Donaldson, 1984), impossibilitando a previsão do número de embriões que serão recuperados (Silva et al., 2002) Os fatores responsáveis pela variabilidade dos resultados são de origem múltipla e ainda pouco compreendidos (Kafi & Mc Gowan, 1997).

Dentre as principais gonadotrofinas utilizadas destacam-se a eCG administrada isoladamente (Boland et al., 1978) ou associada ao soro anti-eCG (Silva et al., 2002), a Gonadotrofina Humana da Menopausa (hMG; Alvarez et al., 1994) e o FSH-p proveniente do extrato de hipófises de suínos, eqüinos e ovinos (Donaldson, 1989) ou, mais recentemente, o FSH-p recombinante bovino. Porém, o FSH-p e o eCG são os hormônios mais utilizados (Moraes, 1990; Silva et al., 2002). O eCG tem sido associado a um número elevado de folículos anovulatórios devido à sua meia-vida longa no sangue. O uso do soro anti-eCG diminui a incidência desses folículos, porém não ocorre aumento correspondente no número de embriões transferíveis. Já o FSH-p, com sua meia-vida curta, resulta em taxa de ovulação equivalente, mas o total de embriões viáveis é maior (Boland et al., 1981).

Moraes (1990) trabalhando com 217 doadoras *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* encontrou médias de 8,25 e 9,37 corpos lúteos (CL) por colheita, quando utilizou eCG e FSH-p, respectivamente. Esses resultados não acusaram diferença significativa entre os tratamentos efetuados, embora tenha sido observada uma

tendência favorável ao FSH-p. O autor verificou a influência do tipo racial sobre os valores médios de CL palpados que foram de 8,62 e 10,38 para *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus*, respectivamente.

Considerando animais zebuínos, especificamente da raça Brahman, Massey & Oden (1984) obtiveram média de 9,30 CL em vacas superovuladas com FSH-p. Já Dhanani et al. (1991) alcançaram resultado superior (10,60 CL por animal) em 97 doadoras da mesma raça, superovuladas com este hormônio. Gradela et al. (1996) detectaram média de 13,08 CL em 13 vacas Nelore tratadas com dose total de 22 mg de FSH-p (Folltropin-V[®]).

2.2. Coleta de embriões

Ao analisar o tipo racial sobre a coleta de embriões, Donaldson (1984) encontrou valores médios de 11,10 estruturas recuperadas e 5,30 embriões transferíveis para vacas de corte *Bos taurus taurus*, enquanto que as doadoras *Bos taurus indicus* apresentaram, em média, 9,20 estruturas e 3,40 embriões transferíveis; sendo que ambos grupos raciais foram submetidos a tratamentos estimulantes com FSH-p. Seguindo a linha de pesquisa, Moraes (1990) obteve número de estruturas coletadas e embriões viáveis por animal de 8,43 e 3,08 para vacas taurinas e 5,72 e 2,42 para vacas indianas, respectivamente, no entanto Gradela et al. (1996) e Silva et al. (2003) mostraram resultados superiores quando observaram resposta ovariana de vacas Nelore tratadas com FSH-p. Os primeiros autores recuperaram, em média, 10,28 embriões por fêmea, dos quais 5,23 foram classificados como viáveis e, os últimos autores coletaram em média 11,50 embriões por fêmea, sendo 5,30 embriões transferíveis. Fonseca et al. (2001) descreveram para vacas zebuínas doadoras de embriões, uma média geral de 5,20 estruturas viáveis ao utilizar o protocolo de 350 UI de FSH-p, administrado em 8 doses decrescentes, a cada 12 horas, a partir do décimo dia do ciclo estral.

2.3. Desenvolvimento embrionário

Experimento realizado por Randel (1984) mostrou que fêmeas zebuínas apresentaram concentração de LH mais baixa no pico pré-ovulatório e o intervalo do início do estro ao pico pré-ovulatório de LH variou de 0,40 horas em novilhas Brahman, enquanto que para novilhas BrahmanxHereford e Hereford foi de 6,80 e 5,30 horas, respectivamente. Mizuta (2003) obteve intervalo, em média, maior para vacas Angus (8,00 horas) e Nelore x Angus (8,00 horas) e vacas Nelore (2,00 horas). Trabalhos com fêmeas européias encontraram valores de 4,57 horas (Dieleman et al., 1986). Ovulações

precoces podem resultar em fertilizações também mais precoces, permitindo aos embriões zebuínos mais tempo para o desenvolvimento e, assim possibilitam o seu desenvolvimento a estádios mais avançados no dia da colheita (Fonseca et al., 2001).

2.4. Aumento da densidade energética e protéica da dieta

A utilização do aumento da densidade energética e protéica da dieta a curto prazo (*flushing nutricional*) tem melhorado a taxa de crescimento folicular e a de fertilidade após a sincronização de estro em vacas de corte (Ponsart et al., 1998).

Novilhas de corte de 16 a 20 meses de idade, submetidas a um *flushing nutricional* por 12 a 16 dias, tiveram o *poll* de folículos pequenos aumentados de 0,29 a 0,67 e de 0,68 até 1,57 mm, sugerindo que o aumento de energia pode alterar a taxa de crescimento e o número de folículos ovarianos (Maurasse et al., 1985). A utilização de *flushing nutricional* associado ou não ao BST em vacas das raças Simental e Blond'Daquitaine (Cavaliere et al., 2000), aumentou o número de folículos pequenos e médios antes da superovulação, mas não alterou a resposta superovulatória e a produção de embriões.

As concentrações plasmáticas de Insulina e IGF-1 diminuem quando as dietas deficientes levam os animais ao anestro, mas ao contrário da insulina, que tem ação sistêmica e é levada aos ovários pelo sangue, IGF-1 também é produzida localmente no ovário, e suas concentrações no fluido folicular não são afetadas pelo estado nutricional (Spicer et al., 1992). Portanto, as concentrações de insulina estão mais relacionadas a atuarem como um “sinal” nutricional para os centro hipotalâmicos que regulam a secreção de GnRH e a ciclicidade.

O maior recrutamento folicular após a utilização de aumento de energia na dieta parece estar diretamente relacionado à alteração nas concentrações sanguíneas de glicose, de insulina, de GH e de IGF-I, importantes mediadores entre a nutrição e a reprodução animal. O aumento de energia na dieta provoca uma elevação plasmática de IGF (Gutiérrez et al., 1997), com diminuição nas proteínas ligantes de IGF-I (Armstrong et al., 1998), sugerindo uma diminuição do IGF-I circulante e maior disponibilidade local de IGF-I, o que pode ser atribuído como causa do maior crescimento dos folículos pequenos. A utilização de dietas energéticas, ricas em carboidratos favorece a produção de ácidos graxos voláteis no rúmen, onde o ácido propiônico é o principal substrato gliconeogênico utilizado pelos ruminantes (O'Callaghan et al., 1999), aumentando o nível de glicose circulante, que induz o aumento no nível sanguíneo de insulina.

Literatura citada

- ALEIXO, J.A.G.; DESCHAMPS, J.C.; BORDIGNON, V. et al. Gonadotrofina coriônica equina, purificação, caracterização e resposta ovariana em ovinos e suínos. **Ciência Rural**, v.25, n.1, p.111-114, 1995.
- ALEIXO, M.A.; KOZICKI, L.E.; WEISS, R.R. et al. A somatotropina recombinante bovina (bST) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.19-27, 2005.
- ALLEN, W.R; MOOR, R.M. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by foetal trophoblast cells. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.29, n.2, p.313-316, 1972.
- ALMERAYA, A.I.P.; HIDALGO, C.G. Utilización de progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. **Veterinary Mexico**, v.23, n.1, p.31-36, 1992.
- ALVAREZ, R.H. Recentes progressos na superovulação dos bovinos. **Zootecnia**, v.32 (Supl.), n. ún., p.31, 1994.
- ALVAREZ, R.H.; MARTINEZ, A.C.; CARVALHO, J.B.P. et al. Eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial pré-fixada em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*. **Pesquisa agropecuária Brasileira**, v.38, n.2, p.317-323, 2003.
- ALVAREZ, R.H. **Fatores determinantes do sucesso de um programa de transferência de embriões em bovinos**. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2008_1/embrioes/index.htm>. Acesso em: 27/7/2009.
- ANUALPEC: **Anuário da pecuária brasileira**. São Paulo: Instituto FNP, 2008. 380p.
- ARMSTRONG, D.T. Recent advances in superovulation of cattle. **Theriogenology**, v.39, n.1, p.7-24, 1993.
- ARMSTRONG, J.D.; HARVEY, R.W.; POORE, M.A. et al. Recombinant bovine somatotropin increases milk yield and calf gain in diverse breeds of beef cattle: associated changes in hormones and indices of metabolism. **Journal of Animal Science**, v.73, n.10, p.3051-3061, 1995.
- ARMSTRONG, D.G., BAXTER, G., HOGG, C.O. et al. The effect of different energy and protein diets on the expression of mRNA encoding components of the ovarian IGF-system in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, Abstract Series, Suppl.22, p.13, 1998.
- BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A. et al. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF_{2α} and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.53, n.5, p.1121-1134, 2000.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F. et al. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed insemination. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.214 (abstract), 2003.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte, In: 1º SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, Londrina, PR. **Anais...** 246p., p.155, 2004.
- BASTOS, G.M.; BRENNER, R.; WILLKE, F. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress.

- Theriogenology**, v.62, n.5, p.847-853, 2004.
- BO, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1555-1569, 1994.
- BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, n.3, p.193-204, 1995a.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v.43, n.1, p.31-40, 1995b.
- BOLAND, M.P.; CROSBY, J.F.; GORDON, J. Morphological normality of cattle embryos following superovulation using PMSG. **Theriogenology**, v.10, n.2-3, p.175-180, 1978.
- BOLAND, M.P.; GOUDING, D.; ROCHE, J.F. Alternative gonadotrophins for superovulation in cattle. **Theriogenology**, v.34, n.1, p.5-17, 1981.
- BORGES, Á.M.; CARVALHO, B.C.; RUAS, J.R.M. Manejo reprodutivo da vaca mestiça: estado da arte. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 18, 2009, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2009. (CD-ROM). ISSN1984-871.
- BRAW-TAL, R; YOSSEFI, S. Studies *in vivo* and *in vitro* on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. **Journal of Reproductive and Fertility**, v.109, n.1, p.165-171, 1997.
- BROWN, J.G.; PETERSON, D.W.; FOOTE, W.D. Reproductive response of beef cows to exogenous progestogen, estrogen and gonadotropins at various stages postpartum. **Journal of Animal Science**, v.35, n.2, p.362-369, 1972.
- CARTMILL, J.A.; EL-ZARKOUNY, S.Z.; HENSLEY, B.A. et al. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.5, p.1051-1059, 2001.
- CAVALIERI, F.L.B.; PEIXER, M.A.S.; PEREIRA, D.C. et al. Efeito do *flushing nutricional* associado ou não à rBST no crescimento folicular e produção de embriões em vacas das raças Simental e Blond D'Aquitaine. In: Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 28, 2000, Caldas Novas. **Anais...** Caldas Novas, p.235, 2000.
- CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, A.; GALLIGAN, D.T. et al. Responses of dairy cows supplemented with somatotropin during weeks 5 through 43 of lactation. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.5, p.800-812, 1997.
- CHUPIN, D; SAUMANDE, J. New attempts to decrease the viability of ovarian response to PMSG in cattle. **Annales Biology Animal Biochimie and Biophys**, v.19, n.5, p.1489-1498, 1979.
- CHUPIN, D; COMBARNOUS, Y; PROCUREUR, R. Antagonistic effect of LH on FSH induced superovulation in cattle. **Theriogenology**, v.21, n.1, p.229, 1984.
- COLE, H.H; HART, G.H. Potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. **American Journal Physiology**, v.93, n.1, p.57-58, 1930.
- COLLIER, R.G.; VINICI, J.L. Potential therapeutic uses of bovine somatotropin in cattle. In: KENNEDY, J. (ed). **Advances in Dairy Technology**. Edmont, p.211-225, 1996.

- CROWE, M.A. Gonadotrophic control of terminal follicular growth in cattle. **Reproduction Domestic Animals**, v.34, n.3, p.157-166, 1999.
- CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D. et al. Effect of eCG treatment in postpartum beef cows synchronized with progesterone devices and estradiol benzoate and inseminated at a fixed-time. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.216, 2003. (Abstract)
- DHANANI, J.; JILLELLA, D.; CHENOWETH, P.J. Prediction of response superovulation treatment in *Bos indicus* cattle by plasma progesterone estimation. **Theriogenology**, v.35, n.1, p.192, 1991.
- DIELEMAN, S.J.; BEVERS, M.M.; VAN TOL, H.T.M. et al. Peripheral plasma concentrations of oestradiol, progesterone, cortisol, LH and prolactin during the oestrus cycle in the cow, with emphasis on the peri-oestrus period. **Animal Reproduction Science**, v.10, n.4, p.275-292, 1986.
- DONALDSON, L.E. Cattle breed as a source of variation in embryo transfer. **Theriogenology**, v.21, n.6, p.1013-1016, 1984.
- DONALDSON, L.E. Porcine, equine and ovine FSH in the superovulation of cattle. **Theriogenology**, v.31, n.1, p.183, 1989.
- DUFFY, P.; CROWE, M.A.; AUSTIN, E.J. et al. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics estrus and ovulation in early postpartum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, v.61, n.4, p.725-734, 2004.
- FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A.B.; CROCCI, A.J. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF_{2α} and estradiol benzoate (BE). **Theriogenology**, v.55, n.7, p.1521-1532, 2001.
- FERREIRA, A.M. **Manejo reprodutivo e eficiência da atividade leiteira**. Coronel Pacheco : Embrapa-CNPGL, 1991. 47p. (Embrapa-CNPGL. Documentos, 46).
- FERREIRA, A.M. Nutrição e atividade ovariana em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.28, n.9, p.1077-1093, 1993.
- FERREIRA, A.M. Novos conceitos sobre o anestro pós-parto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p.62-70, 1995.
- FERREIRA, M.A.; CASTRO, A.C.G.; CAMPOS, J.M.S. Sistemas de aleitamento de bezerros. 1. Desempenho das vacas. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.4, p.723-728, 1996.
- FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F. et al. Restrição alimentar e atividade ovariana luteal cíclica pós-parto em vacas girolanda. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.12, p.2521-2528, 2000.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, n.8, p.1489-1505, 1997.
- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K. et al. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, n.8, p.2009-2015, 1997.
- FONSECA, J.F.; SILVA FILHO, J.M.; PINTO NETO, A. et al. Estádios de desenvolvimento embrionário de vacas zebuínas superovuladas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.6, p.671-676, 2001.

- GALVANI, F. Manejo reprodutivo em gado de corte em regime de monta natural e inseminação artificial. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 18, 2009, Belo Horizonte, MG. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2009. (CD-ROM). ISSN1984-871.
- GAY, V.L.; MIDGLEY, A.R.; NISWENDER, G.D. Patterns of gonadotrophin secretion associated with ovulation. **Federation Proceedings**, v.29, n.6, p.1880-1887, 1970.
- GINTHER, O.J. **Reproductive Biology of the Mare**. Ann Arbor: McNaughton, 413p., 1979.
- GINTHER, O.J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycle with two and three follicular waves. **Theriogenology**, v.87, n.1, p.223-230, 1989.
- GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v.52, n.6, p.1079-1093, 1999.
- GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A. et al. Pretreatment with recombinant somatotropin bovine enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, n.3, p.611-622, 1996.
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; ROSA e SILVA, A.A.M. Plasma concentrations of progesterone, 17 β -estradiol and androstenedione and superovulatory response of Nelore cows (*Bos indicus*) treated with FSH. **Theriogenology**, v.45, n.4, p.843-850, 1996.
- GUDERMANN, T; NÜRNBERG; B; SCHULTZ; G. Receptors and G proteins as primary components of transmembrane signal transduction. I. G-protein-coupled receptors: structure and function. **Journal of Molecular Medicine**, v.73, n.2, p.51-63, 1995.
- GUTIÉRREZ, C.G.; OLDHAM, J.; BRAMLEY, T.A. et al. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, n.7, p.1876-1884, 1997.
- GYAWU, P.; DUCKER, M.J.; POPE, G.S. et al. The value of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol in controlling the timing of oestrus and ovulation in dairy cows and allowing successful fixed time insemination. **British Veterinary Journal**, v.147, n.2, p.171-182, 1991.
- HAFEZ, E.S.E. **Reproduction in Farm Animals**. 7^a ed. Philadelphia: Lippicott Williams e Wilkins, p.95-127, 2000.
- HASLER, J.F. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.79, n.3, p.245-264, 2003.
- HOLMANN, F.J.; SHUMWAY, R.W.; BLAKE, R.W. et al. Economic value of days for Holstein cows of alternative milk yields with varying calving intervals. **Journal of Dairy Science**, v.67, n.5, p.636-643, 1984.
- IZADYAR, F.; VAN TOL, H.T.A.; HAGE, W.G. et al. Preimplantation bovine embryos express mRNA of growth hormone receptor and respond to growth hormone addition during *in vitro* development. **Molecular Reproduction and Development**, v.57, n.3, p.247-255, 2000.
- KAFI, M.; MCGOWAN, M.R. Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. **Animal Reproduction Science**, v.48, n.2-4, p.137-157, 1997.
- LAMMOGLIA, M.A.; SHORT, R.E.; BELLOWS, S.E. et al. Induced and synchronized

- estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}. **Journal of Animal Science**, v.76, n.6, p.1662-1670, 1998.
- LAROCCA, C; MARTINEZ, Y.G. Inducción y sincronización del celo em novillas Siboney (5/8 H, 3/8 C) mediante bajas dosis de progesterona y PMSG. **Revista Cubana de Reproducción Animal**, v.9, n.2, p.7-13, 1983.
- LEROY, J.M.L.R. Metabolic changes in high producing dairy cows and the consequences on oocyte and embryo quality. Maandag: Ghent, 2005. 252p. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de Ghent, 2005.
- MACMILLAN, K.L.; PETERSON, A.J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of postpartum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v.33, n.1-4, p.1-25, 1993.
- MACMILLAN, K.L.; BURKE, C.R. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.42, n.1-4, p.307-320, 1996.
- MACMILLAN, K.L. Pharmacological control of the oestrous cycle to improve the reproductive performance of cattle. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.23, n.2, p.61-64, 1999.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. Alternative methods of synchronizing estrus and ovulation for fixed-time insemination in cattle. **Theriogenology**, v.49, n.1, p.350, 1998. (Abstract)
- MASSEY, J.M.; ODEN, A.J. No seasonal effect on embryo donor performance in the Southwest region of the USA. **Theriogenology**, v.21, n.1, p.196-217, 1984.
- MAURASSE, C.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Ovarian follicular populations at two stages of in estrus cycles given high energy diets. **Journal of Animal Science**, v.61, n.1, p.1194-1200, 1985.
- MIALOT, J.P.; CONSTANT, F.; DEZAUX, P. et al. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH+PGF_{2α}+GnRH and PRID+PGF_{2α}+eCG. **Theriogenology**, v.60, n.2, p.319-330, 2003.
- MIZUTA, K. Estudo comparativo dos aspectos comportamentais dos estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus*x*Bos taurus taurus*). 2003, 98f. **Tese** (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo: São Paulo, 2003.
- MOREIRA, F.; RISCO, C.A.; PIRES, M.F.A. et al. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.6, p. 1237-1247, 2000.
- MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C.A. et al. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, n.7, p.1646–1659, 2001.
- MORAES, G.V. Avaliação quali-quantitativa da transferência de embriões em bovinos. 1990, 170f., **Tese** (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista: Jaboticabal, 1990.
- MURPHY, B.D; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, v.12, n.1, p.27-44, 1991.

- O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Animal Science**, v.68, n.2, p.299-314, 1999.
- ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.817-830, 1990.
- PAPKOFF, H. Chemical and properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.58, n.2, p.397-404, 1974.
- PARROTT, J.A.; SKINNER, M.K. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Endocrinology**, v.140, n.9, p.4262-4271, 1999.
- PAVLOK, A.; KOUTECKÁ, L.; KREJCI, P. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.41, n.3-4, p.183-192, 1996.
- PERRY, G.A.; MANIKKAM, M.; GARVERICK, H.A. et al. Ontogeny of FSH receptor and steroidogenic enzyme mRNA expression in bovine fetal ovaries. 2000. Disponível em: <http://abstracts.co.allenpress.com/pweb/ssr2000/abstracts/MIC-4-10-38.html>. Acesso em: julho de 2009.
- PETERS, J.B.; WELCH, J.A.; LAUDERDALE, J.W. et al. Synchronization of estrus in beef cattle with PGF_{2α} and estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.45, n.2, p.230-235, 1977.
- PETERS, M.W.; PURSLEY, J.R. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after pre-synchronization injections of PGF_{2α} and GnRH. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.9, p.2403-2406, 2002.
- PETERS, M.W.; PURSLEY, J.R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and dairy cows. **Theriogenology**, v.60, n.6, p.1197-1204, 2003.
- PONSART, C.; KHIREDINE, B.; PONTER, A.A. et al. Influence of type of *flushing* on LH secretion, follicular growth and on the response to estrus synchronization treatment in postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.49, n.7, p.1409-1423, 1998.
- PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. **Theriogenology**, v.44, n.7, p.915-923, 1995.
- PURSLEY, J.R.; KOSOROK, M.R.; WILTBANK, M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.2, p.301-306, 1997a.
- PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; STEVENSON, J.S. et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or estrus. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.2, p.295-300, 1997b.
- RANDEL, R.D. Seasonal effects on female reproductive functions in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v.21, n.1, p.170-185, 1984.
- REICHENBACH, H.D.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. et al. Transferência e criopreservação de embriões bovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. (Eds). **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**, São Paulo: Livraria Varela, p.127-177, 2001.
- ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. Postpartum anestrus in dairy and beef

- cows. **Animal Reproduction Science**, v.28, n.1-4, p.371-378, 1992.
- RHODES, F.M.; FITZPATRICK, L.A.; ENTWISTLE, K.W. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.104, n.1, p.41-49, 1995.
- RUAS, J.R.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. et al. Indução do estro no pós-parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.476-484, 2005.
- RUAS, J.R.M.; SILVA, M.A.E.; FERREIRA, J.J. Desempenho produtivo e reprodutivo de vacas F1 Holandês x Zebu em rebanhos da EPAMIG. In: Encontro de Produtores de Gado Leiteiro F1, 6, 2008, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: [s.n.], p.146-183, 2008.
- SAIDUDDIN, S.; QUEVEDO, M.M.; FOOTE, W.D. Response of beef cows to exogenous progesterone hormone and estradiol at various stages postpartum. **Journal of Animal Science**, v.27, n.4, p.1015-1020, 1968.
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; BARUSELLI, P.S. et al. Estudo da dinâmica folicular de vacas nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando Folltropin® (FSH-p) como indutor de crescimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.1152, 2007a.
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; VALENTIM, R. et al. Taxa de prenhez a IATF de vacas zebuínas em anestro tratadas com dose única de FSH-p (Folltropin®). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.1151, 2007b.
- SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P. et al. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, n.2, p.663-671, 1988.
- SCHMIDT, G.H. Effect of length of calving intervals on income over feed and variable costs. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.6, p.1605, 1989.
- SILVA, J.C.; COSTA, L.L.; SILVA, J.R. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. **Theriogenology**, v.58, n.1, p.51-59, 2002.
- SILVA, R.C.P.; LUERSEN, F.; BLASCHI, W. et al. Transferência de embriões em tempo fixo: incremento no aproveitamento de receptoras através da avaliação ultrassonográfica. **Acta Scientiae Veterinariae**, n.31, p.584, 2003.
- SILVA, J.C.C.; ZANENGA, C.A.; PEREIRA G.T. et al. Factors affecting the embryos production of superovulated zebu cows. **Animal Reproduction**, 2009 (no prelo).
- SILVEIRA, R.L. Regulação de receptores esteróides, dinâmica folicular e incremento na eficácia reprodutiva pós-parto das vacas de corte. 2005.85f. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- SIMONI, M.; GROMOLL, J.; NIESCHLAG, E. The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. **Endocrine reviews**, v. 18, n.6, p. 739-773, 1997.
- SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers monitored by real time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v.39, n.2, p.308-317, 1988.
- SPICER, L.J.; CROWE, M.A.; PRENDIVILLE, D.J. et al. Systemic but not intraovarian concentrations of insulin-like growth factor-I are affected by shortterm fasting. **Biology of Reproduction**, v.46, n.5, p.920-925, 1992.

- STEVENSON, J.S.; KOBAYASHI, Y.; SHIPKA, M. et al. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F_{2α}. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.3, p.402-410, 1996.
- STEVENSON, J.S.; KOBAYASHI, Y.; THOMPSON, K.E. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of Gonadotropin-Releasing Hormone and Prostaglandin F_{2α}. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.3, p.506-515, 1999.
- STEWART, J.M.; ALLEN, W.R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotropins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.62, n.2, p.527-536, 1981.
- TENHAGEN, B.A.; DRILLICH, M.; HEUWIESER, W. Analysis of cow factors influencing conception rates after two timed breeding protocols. **Theriogenology**, v.56, n.5, p.831-838, 2001.
- TENHAGEN, B.A.; WITTKE, M.; DRILLICH, M. et al. Timing of ovulation and conception rate in primiparous and multiparous cows after synchronization of ovulation with GnRH and PGF_{2α}. **Reproduction in Domestic Animals**, v.38, n.6, p.451-454, 2003.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. et al. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.55, n.1, p.75-90, 2001.
- THIBIER, M. Significant increases in transfers of both in vivo derived and in vitro produced embryos in cattle and contrasted trends in other species in 2004. **Embryo Transfer Newsletter**, v.23, n.4, p.11-17, 2005.
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; DUFOUR, J.J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.73, n.10, p.3141-3151, 1995.
- ULBERG, L.C.; LINDLEY, C.E. Use of progesterone and estrogen in the control of reproductive activities in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.19, n.4, p.1132-1142, 1960.
- VIANA, J.H.M. Estado atual da Transferência de Embriões (TE) e Produção in vitro de embriões (FIV) no Brasil e no mundo. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, I, 2006, Belo Horizonte, **Anais...** Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 2006.
- VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35(Supl. 3), p.s915-s924, 2007.
- VILELA, D. Cruzamento errado pode deteriorar a genética. **Noticiário Tortuga**, v.49, n.432, 2003.
- XU, Z.Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.H. et al. Expression of FSH and LH receptor messenger ribonucleic-acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53, n.4, p.951-957, 1995.
- WANDJI, S.A.; PELLETIER, G.; SIRARD, M.A. et al. Ontogeny and cellular localization of 125I-labeled insulin-like growth factor-I, 125I-labeled follicle-stimulating hormone, and 125I-labeled human chorionic gonadotropin binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. **Biology of Reproduction**, v.47, n.5, p.814-822, 1992.

- WEBB, R.; CAMPBELL, B.K.; GARVERICK, H.A. et al. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **Journal of Reproduction and Fertility**, Suppl.54, p.33-48, 1999.
- WILTBANK, J.N.; INGALLS, J.E.; ROWDEN, W.W. Effects of various forms and levels of estrogens alone or in combination with gonadotrophins on the estrous cycle of beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.20, n.2, p.341-346, 1961.
- WILTBANK, M.C. Uso eficaz de hormônios de reprodução: II Programas de Reprodução. In: NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS 4, 2000, Uberlândia. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2000, p.71-85.
- WISHART, D.F.; YOUNG, L.M.; DREW, S.B. Fertility of norgestomet treated dairy heifers. **The Veterinary Record**, v.100, n.20, p.417-420, 1977.

BENZOATO DE ESTRADIOL NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO ASSOCIADO À SUPLEMENTO DE AMINOÁCIDOS E POLIPEPTÍDEOS INJETÁVEL EM VACAS DA RAÇA NELORE

Resumo: Objetivou-se avaliar a dinâmica folicular e a eficiência reprodutiva em vacas da raça Nelore com a administração de benzoato de estradiol (BE) na sincronização da ovulação associado a suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. No experimento I, analisou-se a dinâmica folicular, utilizando 32 vacas Nelore em fatorial 2x2, com administração (TSuplemento) ou não (TControle) de suplemento de aminoácidos injetável e dois protocolos de sincronização da ovulação: o TBE9, com aplicação de BE no dia 0 e 9, e a IA realizada 50-56 h após a retirada do dispositivo de progesterona; e o TBE8, similar ao anterior, com a segunda dose de BE no dia 8 e a IA 48 h após a retirada. No experimento II verificou-se a eficiência reprodutiva em TControle (n = 48), TSuplemento (n=52), TBE8 (n= 51) e TBE9 (n= 49). Utilizou-se o programa SAS[®] 9.0 a 5% de probabilidade. No experimento I, não foi observado (P>0,05) efeito dos protocolos e do suplemento na dinâmica folicular. O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi 11,06; 10,36; 11,25; 10,18 mm nas vacas do TControle, TSuplemento, TBE8 e TBE9, respectivamente. Os intervalos da taxa de crescimento folicular, da retirada dos dispositivos e da IATF à ovulação foram 0,15 a 0,22 mm/dia; 59,63 a 64,31 h; e 11,26 a 16,26 h, respectivamente. No experimento II, não houve diferença (P>0,05) para taxa de prenhez na IATF, no repasse por touros e na acumulada, respectivamente, para TControle (56,25; 38,09 e 72,92%), TSuplemento (50,00; 65,38; 80,77%), TBE8 (54,90; 52,17; 78,43%); e TBE9 (51,02; 62,00; 75,51%). A administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável e o intervalo de administração do BE à IATF não influenciaram a dinâmica folicular, o intervalo até a ovulação e as taxas de prenhez na IATF, no repasse por touros e na acumulada.

Palavras-chave: biotecnologia, eCG, hormônios, Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), progesterona, reprodução

ESTRADIOL BENZOATE ON THE SYNCHRONIZATION OF OVULATION ASSOCIATED TO INJECTABLE AMINO ACIDS AND POLYPEPTIDES SUPPLEMENTATION IN NELORE COWS

Abstract: The objective was to evaluate follicular dynamics and reproductive efficiency in Nelore cows with the use of estradiol benzoate (EB) on the synchronization of ovulation associated to injectable amino acids and polypeptides supplementation. In the Experiment I, 32 Nelore cows were evaluated by follicular dynamics in a 2X2 factorial arrangement, receiving amino acids and polypeptides (Tsupplementation) or no (Tcontrol). Also, two protocols of synchronization of ovulation were used: TEB9, with EB administration on days 0 and 9 and TAI performed at 50-56 h after progesterone device removal; and TEB8, similar to the first one, but with the second dose of EB on day 8, and TAI performed at 48h after its removal. In the experiment II, reproductive efficiency was evaluated in Tcontrol (n=48), Tsupplementation (n=52), TEB8 (n= 51) and TEB9 (n=49). Statistical analysis were performed using SAS[®] 9.0 program with 5% of probability. In the experiment I, there were no effects (P>0.05) of the synchronization protocols or of the supplementation on the follicular dynamics. The preovulatory follicle diameter was 11.06; 10.36; 11.25; 10.18 mm for cows in Tcontrol, Tsupplementation, TEB8 and TEB9, respectively. The intervals from follicular growth rate, from devices removal and from TAI to ovulation were 0.15 to 0.22 mm/day; 59.63 to 64.31 h; and 11.26 to 16.26 h, respectively. In the experiment II, there was no

difference ($P>0.05$) for pregnancy rate after TAI, after natural mating or accumulated for Tcontrol= (56.25; 38.09; 72.92%), Tsupplementation (50.00; 65.38; 80.77%), TEB8 (54.90; 52.17; 78.43%) and TEB9 (51.02; 62.00; 75.51%). The administration of injectable amino acids and polypeptides supplementation and the interval from EB administration to TAI did not influence follicular dynamics, the interval to ovulation and the pregnancy rates after TAI, after natural mating and accumulated.

Keywords: biotechnology, eCG, hormones, progesterone, reproduction, Timed Artificial Insemination (TAI)

Introdução

A utilização da inseminação artificial (IA) na bovinocultura é vantajosa quanto à padronização do rebanho, ao controle de doenças sexualmente transmissíveis, à diminuição do custo de reposição de touros e ao melhoramento genético dos animais. No entanto, ainda é pouco utilizada no Brasil, não ultrapassando 7% do rebanho nacional de 169 milhões de bovinos, sendo aproximadamente 69 milhões de fêmeas em idade de reprodução (Anualpec, 2008). A detecção de estro, o anestro pós-parto, a puberdade tardia, os custos e a falta de auxílios técnicos influenciam a maior difusão da biotécnica.

A aplicação de soluções de aminoácidos livres, obtida pela hidrólise ácida e enzimática de órgãos e glândulas de origem bovina, para aplicação parenteral, é um método seguro e indicado em nutrição animal (Liter, 1978). Os aminoácidos livres são diretamente direcionados para a síntese protéica e não se misturam com os aminoácidos intracelulares provenientes do *turnover* de proteínas pré-existent; reforçando a hipótese que a síntese de proteína dos órgãos e glândulas que deram origem aos aminoácidos livres é beneficiada devido à especificidade relativa entre os mesmos (Baldwin et al., 1994). Logo, a administração da suplementação de aminoácidos derivados de hidrólises de órgãos e glândulas relacionadas à reprodução em fêmeas bovinas, pode estimular a eficiência das glândulas das quais foi feita a hidrólise, podendo levar à maior síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH).

Vacas de corte em anestro pós-parto possuem menores concentrações de insulina plasmática e, por isso, são incapazes de ovular o folículo dominante em resposta à restrição da amamentação. Ao contrário, vacas com maiores concentrações de insulina, apresentam maior frequência de pulsos de LH (Sinclair et al., 2002). Assim, a associação de determinados hormônios em protocolos de sincronização da ovulação para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) funciona como estratégia para regularização do ciclo estral e incremento da taxa de prenhez.

Objetivou-se avaliar o momento de administração do benzoato de estradiol e a administração do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável em protocolos de sincronização de ovulação em vacas de corte da raça Nelore quanto à dinâmica folicular e eficiência reprodutiva.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no setor experimental de bovinocultura de corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, município de Viçosa, estado de Minas Gerais. Este setor está localizado nas coordenadas geográficas de 20°45'14" Sul, 45°52'40" Oeste e 658 m de altitude, de clima tipo Cwb, segundo o sistema köppen, ou seja, mesotérmico com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos. A temperatura média anual é de 21,8°C e a precipitação pluviométrica de 1.221,4 mm.

Foram utilizadas vacas lactantes da raça Nelore (*Bos taurus indicus*) em período de estação de monta (dezembro de 2005 a março de 2006), primíparas e múltiparas, apresentando histórico de boa fertilidade e clinicamente sadias, mantidas em único lote, em pastagens de capim *Brachiaria decumbens*, recebendo suplementação com mistura mineral e água à vontade.

Foram realizados dois experimentos, sendo que no experimento I, realizaram-se os exames da dinâmica folicular e no experimento II avaliou-se a eficiência reprodutiva das fêmeas com o uso dos protocolos.

No experimento I, foram utilizadas 32 vacas lactantes em delineamento fatorial 2x2 (suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável x protocolo de sincronização da ovulação). O efeito do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável (Tsuplemento= 16 vacas) ou não (TControle= 16 vacas) em três administrações de 10 mL, intramuscular (IM), a cada sete dias com término no dia da inserção de dispositivo de progesterona (D-14, D-7 e D0; DIB[®]). Os protocolos de sincronização da ovulação avaliados foram: 1) TBE8 (n= 16 vacas) - no dia 0, inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹ e aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de BE²; no dia 8, retirada do DIB, aplicação de 300 UI de eCG³, de 0,15 mg de PGF_{2α}⁴ e de 1 mg de BE, IM; no dia 10, realizou-se a IATF 48 a 52 horas após a retirada do dispositivo de progesterona; 2) TBE9 (n= 16 vacas) - similar ao anterior, com segunda dose de BE administrada 24 horas após a retirada do dispositivo (dia 9) e a IA realizada 50 a 54 horas depois da retirada do mesmo (Figura 1).

¹ 1,0 g Progesterona, DIB[®], Syntex S.A., Buenos Aires, Argentina.

² 1 mg/mL Benzoato de estradiol, RIC BE[®], Syntex S.A., Buenos Aires, Argentina.

³ 200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), Novormon 5000[®], Syntex S.A. – Buenos Aires, Argentina.

⁴ 0,75 mg/mL d-Cloprostenol, Prolise[®], ARSA S.R.L., Syntex S.A. – Buenos Aires, Argentina.

Tabela 1. Composição da fórmula completa para 100 mL solução injetável de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável¹

| Item | Quantidade |
|---|------------|
| Frasco A | |
| Hidrolisado de órgãos (fígado, pulmão, coração, baço e músculo) e glândulas de suínos (hipófise, tireóide e paratireóide) | 5.000 mg |
| Acetil metionina | 210 mg |
| L-Ácido glutâmico | 420 mg |
| Cobalto | 3 mg |
| Magnésio | 42 mg |
| Sódio | 16 mg |
| Ferro dextrano | 10 mg |
| L-Histidina cloridrato | 210 mg |
| L-Lisina cloridrato | 1.000 mg |
| L-Triptofano | 60 mg |
| Cobre | 15 mg |
| Manganês | 15 mg |
| Zinco | 8 mg |
| Água destilada q.s.p. | 100 mL |
| Frasco B | |
| Vitamina B1 | 500 mg |
| Vitamina B6 | 500 mg |
| Ácido nicotínico | 2.200 mg |
| Água destilada q.s.p. | 100 mL |

¹36% de peptídeos, 28% de aminoácidos, minerais e vitaminas, Aminofort[®], Laboratório Vitafort, Brasil.

Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0 (dia 0), 8 (dia 8) e a partir do dia 8, o acompanhamento da dinâmica folicular foi até a determinação da ovulação pela ausência do folículo ovulatório em intervalos de 12 horas, de manhã e à tarde (Dia 8+12 h; Dia 8+24 h; Dia 8+36 h; Dia 8+48 h; Dia 8+60 h; ou mais avaliações se necessárias). A avaliação foi realizada com um aparelho portátil de ultrassom⁵ acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro: pequenos (FP; < 6 mm), médios (FM; 6 a 8,0 mm) e dominantes (FD; > 8,0 mm). Os corpos lúteos foram classificados de acordo com o tamanho da área em: < 1 cm², de 1 a 2 cm², de 2 a 3 cm², de 3 a 4 cm² e > 4 cm². Fez-se a taxa de ovulação das vacas. Determinou-se, ainda, o intervalo para a ovulação, estimado pela soma dos intervalos das avaliações ultrassonográficas, sendo o último intervalo dividido por dois. Assim, foram calculados os intervalos da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação. Na retirada do dispositivo de progesterona foi registrado o diâmetro do maior folículo, assim como o diâmetro do

⁵Medison[®], Sonovet 600.

folículo pré-ovulatório no dia da IATF, sendo calculada a taxa de crescimento nesse intervalo de dois dias.

No experimento II, foram analisados os mesmos tratamentos e utilizado o mesmo delineamento do experimento I, em esquema fatorial 2x2: administração (TSuplemento= 52 vacas) ou não (TControle= 48 vacas) de suplemento de aminoácidos e protocolo de sincronização (TBE8= 51 vacas, TBE9= 49 vacas). Ao início dos protocolos, foi mensurado o peso corporal; estimada a condição corporal das vacas e calculado o período pós-parto de cada fêmea até o dia da IATF, para determinar o período de serviço referente ao uso dos protocolos de sincronização da ovulação. Os animais foram distribuídos uniformemente para essas características. As vacas (n= 100 vacas) apresentaram (média±erro-padrão) período pós-parto médio de 66,52±1,19 dias; peso corporal de 429,65±5,66 kg e escore de condição corporal de 4,91±0,09 (escala de um a nove; Dias, 1991).

Previamente à inserção do dispositivo, realizou-se o exame morfológico do sistema reprodutor feminino por palpação retal para verificar as condições de aptidão para reprodução e avaliou-se a presença de corpo lúteo. As vacas que não apresentaram corpo lúteo foram classificadas como em anestro, considerando que os animais haviam sido rastreados visualmente para observação de estro nos últimos cinco dias. Assim, foi estimado que apenas 10% (9/100) das vacas estavam em anestro.

Após 15 dias da realização da IATF, as vacas foram submetidas à monta natural durante os últimos 45 dias da estação de monta. Foram utilizados touros com fertilidade comprovada por exame andrológico. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após o final da estação de monta (105 dias após a IATF) por palpação retal. Foram calculadas as taxas de prenhez na IATF (vacas prenhes/total de vacas do tratamento), no repasse por touros (vacas prenhes acasaladas com touros/total de vacas vazias do tratamento na IATF) e acumulada (soma das vacas prenhas na IATF ou no repasse por touros/total de vacas do tratamento).

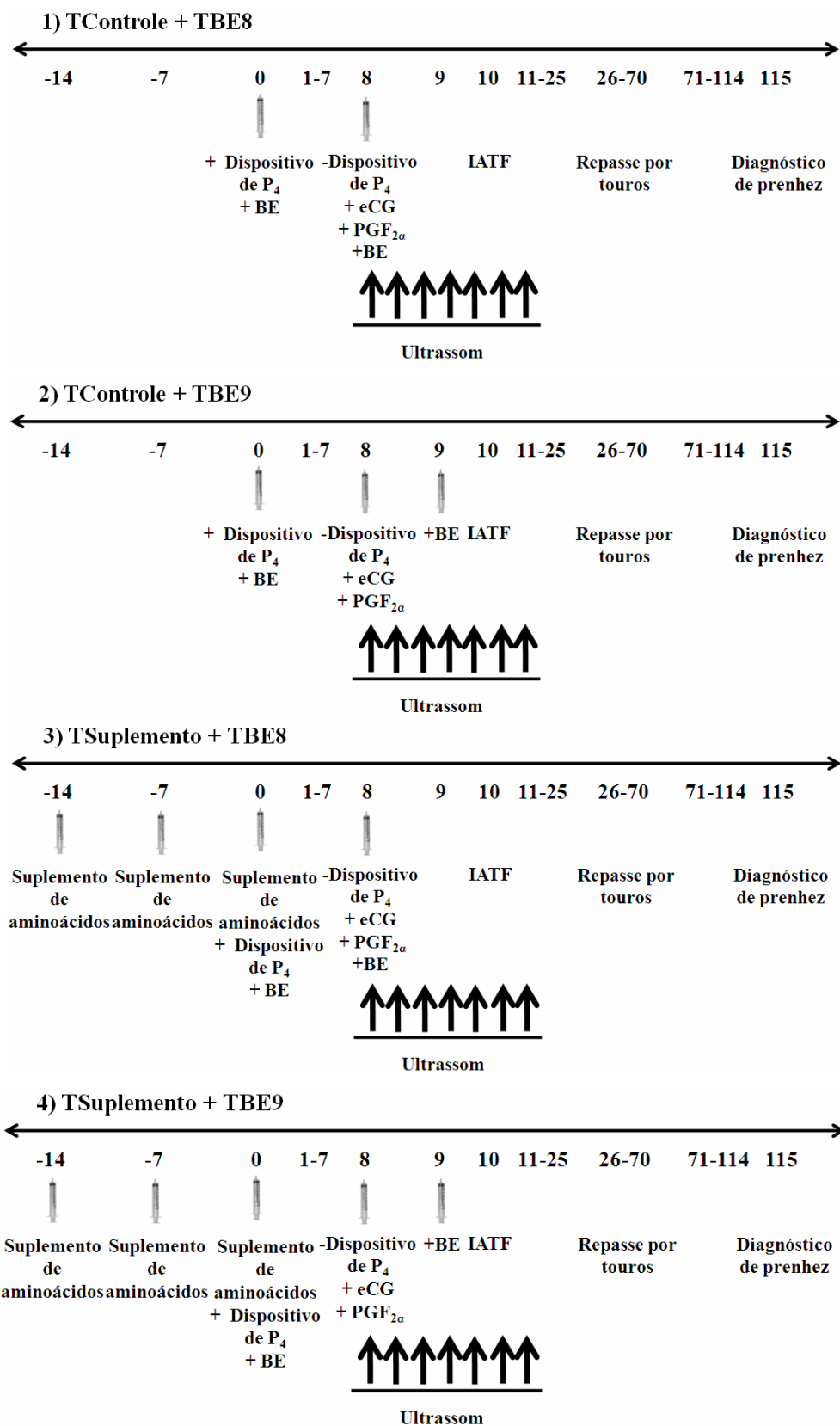


Figura 1. Esquema de aplicação dos tratamentos durante o período experimental.

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando-se sêmen de dois touros da raça Nelore, oriundos da mesma central de sêmen, associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

Para todas as análises estatísticas, utilizou-se o programa SAS 9.0 (2001) a 5% de probabilidade. Os dados foram analisados em fatorial 2x2 (suplementação ou não de aminoácidos e administração de BE no dia 8 ou 9).

Os intervalos da retirada do dispositivo à ovulação (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV), diâmetro do maior e do segundo maior folículo e taxa de crescimento folicular foram analisadas por análise de variância.

A classificação folicular e de corpo lúteo foram analisadas em parcela subdividida com efeito do dia de administração de BE na parcela, da suplementação de aminoácidos na subparcela e do momento de observação na subsubparcela em modelo misto considerando o efeito do animal e os erros aleatórios.

As taxas de ovulação, de prenhez na IATF, de repasse por touro e a acumulada foram submetidas à análise logística.

Foi realizada correlação de Spearman entre prenhez e diâmetro do maior e do segundo maior folículo e taxa de crescimento folicular das vacas utilizadas para a avaliação da dinâmica folicular. Também foi realizada correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, no repasse por touros e acumulada) e o peso corporal (PC), escore de condição corporal (CC), período pós-parto (PP) e condição fisiológica (anestro) das vacas ao início do experimento I.

Resultados e Discussão

No experimento I, houve interação ($P < 0,05$) entre efeito da suplementação de aminoácidos e polipeptídeos injetável, dia de administração de BE e momento da avaliação do diâmetro dos folículos menores que 6 mm (pequenos, Tabela 2). No dia da inserção do dispositivo de progesterona e administração da primeira dose de benzoato de estradiol (2 mg; Dia 0), o número de folículos pequenos foi igual ($P > 0,05$) para todos os tratamentos. Na retirada do dispositivo de progesterona (Dia 8) houve diferença, sendo que o maior número ($P < 0,05$) foi das vacas do TSuplemento + TBE8 e o menor ($P < 0,05$) do TControle + TBE9, enquanto os demais tratamentos não diferiram ($P > 0,05$) com essas associações de tratamentos. Pode ser inferido que a diferenciação no *pool* de folículos pequenos nesse momento foi relativa ao uso do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, proporcionando o desenvolvimento de mais ondas foliculares ao tratamento hormonal inicial com a progesterona e o benzoato de estradiol. Assim, deve ser considerada a hipótese de que a síntese de proteína dos órgãos e glândulas que deu origem aos aminoácidos livres do suplemento é estimulada a maior resposta devido à

especificidade relativa entre os mesmos, no caso o extrato (Baldwin et. al., 1994). Nos exames ultrassonográficos foi observado que 24 horas depois da retirada do dispositivo de progesterona (Dia 8 + 24 h), as vacas do TControle apresentaram menor número de folículos pequenos. Na avaliação do dia 8 + 36 h verificou-se menos ($P<0,05$) folículos pequenos nas vacas do TSuplemento + TBE9. Nas avaliações do dia 8 + 48 h e 60 h, as fêmeas do TControle + TBE8 apresentaram maior número de folículos pequenos ($P<0,05$).

Tabela 2. Classificação de folículos com diâmetro menor que 6 mm no dia 0, em função da suplementação de aminoácidos e polipeptídeos injetável, do dia de administração de BE e do momento de avaliação

| Momento de avaliação | Tratamentos ^{1,2} | | | |
|----------------------|---|--------------|--------------|--------------|
| | Suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável | | | |
| | TControle | | TSuplemento | |
| | Administração de BE | | | |
| | TBE8 | TBE9 | TBE8 | TBE9 |
| Dia 0 | 3,75±1,24aAB | 4,26±1,18aA | 5,75±1,24aA | 4,38±1,24aA |
| Dia 8 | 4,38±1,24abAB | 3,07±1,18bA | 6,75±1,24aA | 5,63±1,24abA |
| Dia 8+12 h | 4,38±1,24aAB | 3,72±1,18aA | 6,75±1,24aA | 5,63±1,24aA |
| Dia 8+24 h | 4,25±1,24bAB | 3,56±1,18abA | 5,25±1,24aA | 3,38±1,24abB |
| Dia 8+36 h | 6,00±1,24aA | 2,65±1,18abA | 4,88±1,24abA | 2,13±1,24bB |
| Dia 8+48 h | 5,50±1,24aA | 1,87±1,18bA | 2,13±1,24abB | 1,50±1,24bB |
| Dia 8+60 h | 5,75±1,24aA | 1,87±1,18bA | 2,13±1,24bB | 1,50±1,24bB |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Médias seguidas de letras minúsculas ou maiúsculas diferentes na mesma linha ou coluna, respectivamente, diferem entre si pelo teste t ($P<0,05$).

Há relatos do uso de estrógenos, como agentes luteolíticos em conjunto com progestágenos, há aproximadamente 50 anos atrás (Wiltbank et al., 1965). Nos anos 90, novos estudos foram realizados com a utilização de progesterona e estrógeno para suprimir o desenvolvimento do folículo dominante e proporcionar a sincronização do desenvolvimento de nova onda folicular (Bó et al., 1994; Bó et al., 1995a, 1995b; Caccia & Bó, 1998). Pode-se destacar que ao tratar-se de evolução científica importante deve ser mencionado o efeito do estradiol como supressor do crescimento do folículo dominante. O efeito de induzir a regressão de folículos antrais é maior quando a administração do BE ocorre na presença de elevadas concentrações de progesterona, isto é, associado ao dispositivo de progesterona. O mecanismo desse efeito parece estar envolvido à supressão de FSH (Bó et al., 1994) e de LH (Mapletoft et al., 2008). Portanto, a utilização do estradiol no início do protocolo de sincronização de estro teve como objetivo suprimir o desenvolvimento folicular pelo aumento nas concentrações de

estradiol plasmático que, por sua vez, ocasiona uma redução nas concentrações de FSH. Assim, o tratamento utilizado com dispositivo de progesterona associado ao BE, administrados em qualquer momento do ciclo estral das vacas, é para indução do crescimento síncrono de nova onda folicular em aproximadamente quatro dias após (Bó et al., 1995b; Caccia & Bó, 1998). O aprimoramento da estratégia IATF com o dispositivo de progesterona é devido à manutenção da concentração de progesterona plasmática a níveis subluteais, inibindo o estro e a ovulação, pela sua ação no hipotálamo e na regulação da liberação de GnRH (Mihm & Austin, 2002). Conseqüentemente, há supressão da liberação endógena de LH, afetando o crescimento e maturação do folículo dominante (Kinder et al., 1996). Todavia, não ocorre supressão da secreção de FSH, dando origem às novas foliculares (Savio et al., 1993). Pode ser observado que a quantidade dos folículos do dia 8 foi a maior ou igual a maior, sendo este período caracterizado pelo início do efeito da dominância, restringindo o *pool* de nova onda folicular.

Ao comparar a dinâmica folicular das vacas submetidas a cada tratamento, foi verificado na avaliação do dia 8 + 36 h aumento ($P < 0,05$) no *pool* de folículos pequenos nas vacas do TControle + TBE8, diferente dos outros tratamentos. Assim, a influência do folículo dominante sobre a origem de folículos antrais foi menor. Com o fornecimento do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, observou-se maior influência do folículo dominante sobre os subordinados na avaliação do Dia 8 + 24 h nas vacas do TSuplemento + TBE9, enquanto nas do TSuplemento + TBE8 foi observado na avaliação do Dia 8 + 48 h.

Não houve interação ($P < 0,05$) entre efeito do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, dia de administração de BE e momento da avaliação do diâmetro dos folículos de médios (6 a 8) e grandes (> 8 mm) (Tabela 3). Foram observados no TBE9, maior ($P < 0,05$) número de folículos > 8 mm por vaca, podendo ser esperada maior taxa de fecundação, devido a relação desta com o diâmetro do folículo ovulatório (Vasconcelos et al., 1999a; Colazo et al., 2003; Mussard et al., 2007). De acordo com os momentos de avaliações, houve o desenvolvimento máximo ($P < 0,05$) do número de folículos > 8 mm até a avaliação do Dia 8 + 48 h, ou seja, até no momento da IATF. Alguns folículos ainda foram verificados até 12 horas depois (Dia 8 + 60 h). Após essa última avaliação, foram registradas as ovulações. Com isso, foram atendidas as premissas de protocolos de IATF, que correspondem à indução da emergência de nova onda folicular, controle da duração e crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório.

Tabela 3. Classificação dos folículos com diâmetro entre 6 a 8 mm e maior que 8 mm, em função da suplementação de aminoácidos e polipeptídeos injetável, do dia de administração de BE e do momento de avaliação

| Item | Diâmetro folicular (mm) ^{1, 2} | |
|----------------|---|-------------|
| | 6 a 8 | >8 |
| | Suplementação | |
| TControle | 2,36±0,22a | 0,80±0,09a |
| TSuplementação | 2,52±0,23a | 0,70±0,09a |
| | Dia de administração de BE | |
| TBE8 | 2,29±0,23a | 0,61±0,09b |
| TBE9 | 2,58±0,22a | 0,89±0,09a |
| | Momento de avaliação | |
| Dia 0 | 3,26±0,26a | 0,64±0,14b |
| Dia 8 | 2,13±0,26b | 0,33±0,14b |
| Dia 8+12 h | 2,03±0,26b | 0,31±0,14b |
| Dia 8+24 h | 2,49±0,26b | 0,93±0,14ab |
| Dia 8+36 h | 2,21±0,26b | 1,00±0,14ab |
| Dia 8+48 h | 2,47±0,26b | 1,10±0,14a |
| Dia 8+60 h | 2,47±0,26b | 0,91±0,14ab |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Médias seguidas de letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t (P<0,05).

Houve interação (P<0,05) entre efeito da suplementação de aminoácidos e polipeptídeos injetável, dia de administração de BE e momento da avaliação da presença de corpo lúteo menor que 1 cm² (Tabela 4). No dia 0, os lotes de vacas em cada tratamento foram homogêneos (P>0,05) quanto a presença de corpos lúteos menores que 1 cm². Na avaliação do dia 8, também foram notados corpos lúteos nas vacas de todos os tratamentos, sendo superior nas do TControle + TBE8. Nesse grupo, juntamente com as vacas TSuplemento + TBE9, os corpos lúteos foram observados até a avaliação Dia 8 + 12 h. Após essa avaliação, não foi observada a presença de corpos lúteos menores que 1 cm². Verificou-se assim, o efeito da administração de benzoato de estradiol no Dia 0, para causar ovulação de folículo dominante relacionado às presenças dos corpos lúteos no Dia 8. Também, o efeito da administração da prostaglandina no dia 8 com atresia rápida dos corpos lúteos menores que 1 cm² em no máximo 24 horas.

Tabela 4. Corpo lúteo com diâmetro menor que 1 cm², em função do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, do dia de administração de BE e do momento de avaliação

| Momento de avaliação | Suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável ^{1,2} | | | |
|----------------------|--|-------------|----------------|--------------|
| | TControle | | TSuplementação | |
| | Administração de BE | | | |
| | TBE8 | TBE9 | TBE8 | TBE9 |
| Dia 0 | 0,25±0,11aAB | 0,50±0,11aA | 0,38±0,11Aa | 0,38±0,11aA |
| Dia 8 | 0,50±0,11aA | 0,15±0,12bB | 0,25±0,11abA | 0,38±0,11abA |
| Dia 8+12 h | 0,50±0,11aA | 0,00bB | 0,00bA | 0,38±0,11aA |
| Dia 8+24 h | 0,00ab | 0,00aB | 0,00aA | 0,00aB |
| Dia 8+36 h | 0,00ab | 0,00aB | 0,00aA | 0,00aB |
| Dia 8+48 h | 0,00ab | 0,00aB | 0,00aA | 0,00aB |
| Dia 8+60 h | 0,00ab | 0,00aB | 0,00aA | 0,00aB |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Médias seguidas de letras minúsculas ou maiúsculas diferentes na mesma linha ou coluna, respectivamente, diferem entre si pelo teste t (P<0,05).

Entre a administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, dia de administração de BE e momento da avaliação da presença de corpos lúteos de 1 a 2 e de 2 a 3 cm² não houve interação (P>0,05; Tabela 5). Não foram visualizados corpos lúteos superiores a 3 cm². Neste caso, o efeito da administração de 0,15 mg da prostaglandina d-cloprostenol sobre os corpos lúteos maiores, causou a atresia dos mesmos em até 24 horas depois da administração.

Não houve interação (P>0,05) entre efeito do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável e dia de administração de BE para os intervalos da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV, Tabela 6). Entretanto, para taxa de ovulação, observou-se maior (P<0,05) taxa quando o BE foi administrado no dia 9, sugerindo efeito satisfatório da dose, predispondo à maior taxa de fecundação. Pode ser observado que os intervalos não apresentaram grandes variações. Nas vacas submetidas à administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável houve variação de cerca de 4,7 a 5 horas a mais nos intervalos da retirada dos dispositivos ou da IATF à ovulação, respectivamente. Quanto à variação do intervalo da administração do BE, foi verificado os intervalos de aproximadamente 1,7 e 4,6 h a mais nos intervalos da retirada dos dispositivos ou da IATF à ovulação, respectivamente. Apesar da dinâmica folicular ter sido realizada com 10 vacas por tratamento, a taxa de ovulação pode ser considerada satisfatória, sendo superior aos estudos de Sá Filho et al. (2004) em vacas em anestro (50 a 73%; 2004).

Tabela 5. Classificação do corpo lúteo com diâmetro maior que 1 cm², em função do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, do dia de administração de BE e do momento de avaliação

| Item | Área do corpo lúteo (cm ²) ^{1,2} | |
|---|---|-------------|
| | 1 a 2 | 2 a 3 |
| Suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável | | |
| TControle | 0,09±0,03a | 0,06±0,02a |
| TSuplementação | 0,09±0,03a | 0,01±0,02a |
| Administração de BE | | |
| TBE8 | 0,09±0,03a | 0,04±0,02a |
| TBE9 | 0,09±0,03a | 0,03±0,02a |
| Momento de avaliação | | |
| Dia 0 | 0,44±0,04a | 0,09±0,03a |
| Dia 8 | 0,10±0,04b | 0,10±0,03a |
| Dia 8+12 h | 0,09±0,04b | 0,06±0,03ab |
| Dia 8+24 h | 0,00b | 0,00b |
| Dia 8+36 h | 0,00b | 0,00b |
| Dia 8+48 h | 0,00b | 0,00b |
| Dia 8+60 h | 0,00b | 0,00b |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. ²TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t (P<0,05).

Tabela 6. Intervalos da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV) e taxa de ovulação das vacas, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | ROV (horas) | IATFOV (horas) | Taxa de ovulação (%) |
|---|----------------|-------------------|---|
| Suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável | | | |
| TControle | 59,63±3,08 | 11,26±2,63 | 93,75 ² (15/16) ³ |
| TSuplementação | 64,31±3,08 | 16,26±2,63 | 87,50 (14/16) |
| Valor-P ⁴ | 0,2910 | 0,1715 | 0,5407 ⁵ |
| Administração de BE | | | |
| TBE8 | 61,13±3,08 | 11,59±2,67 | 81,25 (13/16) |
| TBE9 | 62,81±3,08 | 16,23±2,67 | 100,00 (16/16) |
| Valor-P ⁴ | 0,7013 | 0,2298 | 0,0337 ⁵ |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. ²TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Percentuais (%) referentes ao número de vacas prenhas observados. ³Valores absolutos= (vacas que ovularam/total de vacas do tratamento). ⁴Teste F. ⁵Teste χ^2 .

O BE utilizado para a indução da ovulação age por retroalimentação positiva na liberação pulsátil de LH. O tratamento com BE promove a liberação de um pico de LH, dentro de um intervalo de 16 a 30 horas (Lammoglia et al., 1998), a ovulação em cerca de 44,16 ± 2,21 horas após a administração (Barros et al., 2000), e neste experimento foi cerca de 61,13±3,08 horas se administrado no dia 8 e 38,81±3,08 horas se administrado

no dia 9. Ao ser associado aos tratamentos com progesterona, BE e $\text{PGF}_{2\alpha}$ induzem a ovulação sincronizada do folículo dominante presente no final do tratamento, otimizando o emprego da IATF (Baruselli, 2004). Verificaram-se intervalos aproximados ($P>0,06$) da administração do BE à ovulação no uso associado à remoção do dispositivo de progesterona e à administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e gonadotrofina coriônica equina (eCG, TBE8) ou se administrado 24 horas depois (TBE9; Tabela 6). Portanto, o efeito associativo das administrações simultâneas de BE, $\text{PGF}_{2\alpha}$, eCG e remoção do dispositivo de progesterona pelas condições fisiológicas proporcionadas às vacas antecipou o efeito do BE quanto ao pico de LH e ovulação. Além disso, ressalta-se que o manejo das fêmeas é reduzido em um dia.

Para o diâmetro do maior e do segundo maior folículo no dia 10 e taxa de crescimento folicular, não houve efeito da administração do suplemento e nem do dia de administração de BE e da interação entre esses efeitos ($P>0,05$; Tabela 7). O diâmetro do folículo ovulatório das vacas dos tratamentos variou em média de 10,18 a 11,25 mm, sendo considerados em ótimo estágio de desenvolvimento para vacas da raça Nelore. Deve ser observado que apesar dos maiores intervalos para ovulação das vacas do TSuplemento e TBE9, não foi observado maior desenvolvimento médio do diâmetro do folículo dominante ou ovulatório. Na dinâmica folicular do ciclo estral, em vacas Nelore há relatos do diâmetro de folículos ovulatórios de segunda e terceira onda de aproximadamente 12,05 e 11,61 mm, respectivamente (Figueiredo et al., 1997). As características de crescimento e dominância folicular das vacas submetidas à IATF foram similares às avaliações com fêmeas em ciclo estral natural, que apresentam diâmetros máximos dos folículos dominantes de 10 a 12 mm (Bó et al., 1993; Figueiredo et al., 1997; Rhodes et al., 1995). Foram similares ainda aos estudos de Sá Filho et al. (2004), que observaram em programas de IATF à base de progestágenos com o uso ou não de eCG, diâmetros dos folículos ovulatórios de 12,1 e 10,4 mm, respectivamente, em vacas Nelore.

Schmitt et al. (1996) propuseram que o aumento da secreção pulsátil de LH, durante o período entre a luteólise induzida pela $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena e a remoção do progestágeno, permite crescimento mais uniforme do folículo pré-ovulatório. Esta uniformidade foi observada neste experimento.

Tabela 7. Diâmetro do maior folículo no dia 8, do folículo pré-ovulatório e do segundo maior no dia 10 e taxa de crescimento folicular, segundo os tratamentos

| Taxa | Dia 8 | | Dia 10 | | Taxa de crescimento folicular (mm/dia) |
|---|---------------------|------------------------------|-----------------------------|--|--|
| | Maior folículo (mm) | Folículo pré-ovulatório (mm) | Segundo maior folículo (mm) | | |
| Suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável | | | | | |
| TControle | 6,75±0,44 | 11,06±0,53 | 7,69±0,29 | | 1,64±0,29 |
| TSuplemento | 7,00±0,44 | 10,36±0,53 | 7,56±0,29 | | 1,68±0,29 |
| Valor-P ² | 0,6897 | 0,3588 | 0,7599 | | 0,9197 |
| Administração de BE | | | | | |
| TBE8 | 6,75±0,44 | 11,25±0,53 | 8,00±0,29 | | 1,71±0,29 |
| TBE9 | 7,00±0,44 | 10,18±0,53 | 7,25±0,29 | | 1,61±0,29 |
| Valor-P ² | 0,6897 | 0,1630 | 0,0747 | | 0,8017 |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Teste F.

Há de observar que um fator que pode interferir na taxa de prenhez em protocolos de IATF está relacionado ao diâmetro do maior folículo no momento em que é induzida a ovulação, pois quanto menor o diâmetro do folículo ovulatório, menor a probabilidade de concepção (Vasconcelos et al., 1999a; Colazo et al., 2003; Mussard et al., 2007). Justificando isso pela estreita relação entre o diâmetro do folículo ovulatório e o volume do corpo lúteo quanto aos níveis sanguíneos de progesterona sintetizados no próprio corpo lúteo (Vasconcelos et al., 1999a). Dessa forma, a taxa de prenhez em fêmeas submetidas à IATF pode ser comprometida na indução da ovulação de pequenos folículos, que formam pequenos corpos lúteos e, conseqüentemente, produzem menos progesterona. Baixos níveis de progesterona circulante suprimem o desenvolvimento embrionário inicial (Garret et al., 1988; Mann et al., 2006). Pôde ser observado tamanhos satisfatórios dos folículos pré-ovulatórios sem distinção dos protocolos quanto ao efeito da aplicação de eCG, em associação com as variações no momento das administrações de BE e do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável (Tabela 7).

Não houve correlação ($P < 0,05$) entre a prenhez e o diâmetro do folículo pré-ovulatório, do segundo maior folículo e a taxa de crescimento folicular (Tabela 8). O maior diâmetro do folículo pré-ovulatório e a maior taxa de crescimento do dia 8 ao dia 10, não indicaram maior probabilidade de prenhez das vacas.

Tabela 8. Correlação de Spearman entre prenhez e diâmetro do maior e do segundo maior folículo e taxa de crescimento folicular das vacas utilizadas para a avaliação da dinâmica folicular

| | Diâmetro folicular | | Taxa de crescimento folicular |
|---------|--|------------------------|-------------------------------|
| | Folículo pré-ovulatório | Segundo maior folículo | |
| Prenhez | 0,0392 ¹ (0,8314) ² | 0,1672 (0,3605) | 0,0917 (0,6178) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

No experimento II, não houve interação ($P < 0,05$) do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável e dia de administração de BE sobre prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada das vacas. Também não foi observado ($P < 0,05$) efeito dos tratamentos sobre essas variáveis. As taxas de prenhez na IATF foram consideradas satisfatórias, com variações de 50 a 56,25% (Tabela 9).

Tabela 9. Prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada das vacas, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | IATF | Repasse por touros | Acumulada |
|---|---|--------------------|---------------|
| Suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável | | | |
| TControle | 56,25 ² (27/48) ³ | 38,09 (8/21) | 72,92 (35/48) |
| TSuplemento | 50,00 (26/52) | 65,38 (17/26) | 80,77 (42/52) |
| Valor-P ³ | 0,5473 | 0,0970 | 0,3077 |
| Administração de BE | | | |
| TBE8 | 54,90 (28/51) | 52,17 (12/23) | 78,43 (40/51) |
| TBE9 | 51,02 (25/49) | 62,00 (31/50) | 75,51 (37/49) |
| Valor-P ³ | 0,7617 | 0,7616 | 0,5832 |

¹TControle= sem administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável. TSuplemento= administração de 10 mL do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável nos dias D-14, D-7 e D0. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Percentuais (%) referentes ao número de vacas prenhas observados. ³Valores absolutos= (vacas prenhas/total de vacas do tratamento). ³Teste χ^2 .

O maior ($P < 0,05$) número de folículos > 8 mm por vaca do TBE9, não proporcionou maior taxa de fecundação pela relação desta com o diâmetro do folículo ovulatório (Vasconcelos et al., 1999). Quanto ao resultado das vacas que ficaram prenhas no repasse por touros, deve-se destacar que nas vacas do TSuplemento a taxa foi numericamente maior, podendo ser indicativo que o efeito da administração de suplemento para eficiência reprodutiva necessita de intervalo de tempo maior ao que foi proposto neste experimento (três aplicações em intervalos de sete dias terminando no início do protocolo de sincronização da ovulação). A taxa de prenhez acumulada variou de 72,92 a 80,77 % na estação de monta de 70 dias. Portanto, em termos da pecuária

brasileira, esse índice é satisfatório quanto a eficiência reprodutiva e econômica para rebanhos de corte. A ausência do efeito da administração injetável de suplemento de aminoácidos nas vacas pode ter sido devido aos tratamentos não terem sido diferentes em vacas cíclicas e em anestro, uma vez que Norte et al. (2005) verificaram aumento de 10,53% de prenhez em vacas em anestro.

Em um estudo comparando as taxas de prenhez em vacas Braford, inseminadas em tempo fixo, tratadas com dispositivos intravaginais de progesterona e BE no momento da inserção, combinados ou com 300 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo, ou com uma segunda dose de BE (2 mg) 24 h após, foi verificado que as taxas de prenhez nas fêmeas que receberam eCG (44,8%) foram menores que nas que receberam a segunda aplicação de BE (60,7%, Bó et al., 2000).

Gatti et al. (1999), por outro lado, afirmam que a adição BE 24 h após a remoção do implante não melhora os índices de prenhez em vacas com cria ao pé tratadas com progestágenos e eCG e inseminadas em tempo fixo. Em propósito geral, vacas submetidas à IATF em protocolos com BE apresentam taxa de prenhez de aproximadamente 50,0% (Cutaia et al., 2003; Mialot et al., 2003; Cutaia et al., 2006; Martins et al., 2006; Fontes et al., 2007; Borges et al., 2009), valor este similar aos obtidos com os protocolos propostos.

As taxas de prenhez obtidas foram superiores às relatadas por Pincinato et al. (2005). Os autores trabalharam com vacas paridas avaliando o uso (40,6%) ou não (44,2%) de 400 UI de eCG na retirada do dispositivo de progesterona em protocolo de IATF com BE administrado no dia 9. Os autores avaliaram ainda protocolos com administração no dia 0 de 50 µg de acetato de gonadorelina e inserção do DIB, no dia 7 procedeu-se a retirada do DIB, administração de 150 µg de cloprostenol, mais aplicação (40,2%) ou não (36,2%) de 400 UI de eCG, sendo no dia 9 administrado 50 µg de acetato de gonadorelina e realizada a IATF no mesmo momento. Assim, em relativas condições experimentais, verifica-se que o BE possui melhor efeito indutor da ovulação que o GnRH, e também, efeito satisfatório do uso do eCG na dose de 300 UI.

Em experimento realizado por Cutaia et al. (2005a), administrações de BE na retirada do dispositivo de progesterona e 24 horas depois foram avaliadas e, também, de cipionato de estradiol nos mesmos momentos, obtiveram as seguintes taxa de prenhez 42,8, 45,9% e 48,2; 63,2%, respectivamente. A maior taxa de prenhez foi para as novilhas que receberam 0,5 mg de cipionato de estradiol 24 h após a retirada do dispositivo de progesterona. Pode-se observar similaridade nos resultados, embora seja

observado no presente experimento, valor numericamente maior para administração do BE no dia 8.

Cutaia et al. (2005b) verificaram maior taxa de prenhez (53,0%) em vacas com administração de BE 24 horas após a retirada do dispositivo de progesterona do que a administração na retirada (40,5%). Os autores concluíram que devem ser avaliadas outras alternativas para reduzir o número de dias de manejo com as fêmeas no curral durante os protocolos de IATF similares. No entanto, foi notado que a administração do BE no dia 8 é viável para diminuir o manejo com as fêmeas.

Murta & Andrade (2009), trabalhando com vacas de corte zebuínas, avaliaram protocolos utilizando 100 µg (G1) ou 200 µg (G2) e relataram que as taxas de prenhez das fêmeas inseminadas artificialmente foram, respectivamente 26,6% e 20,9%, não apresentando diferenças. Na avaliação da eficiência reprodutiva após o repasse por touros, as taxas de prenhez foram 24,4% e 25,5%, respectivamente. Portanto, o uso de protocolos de IATF com o repasse com touros leva à redução nos custos dessa biotecnologia. Assim, pôde ser observado, nas vacas do presente experimento, satisfatórias taxas de prenhez no repasse por touros que somada às taxas de prenhez na IATF, apresentaram a taxa de prenhez acumulada acima de 72,92% (Tabela 9).

O período de anestro pós-parto em vacas de corte com cria ao pé é influenciado pelo nível nutricional pré e pós-parto (Wiltbank et al., 1962), pela condição corporal ao parto (Selk et al., 1988), pela produção de leite e amamentação (Williams, 1990), idade, estação de parição, entre outros fatores. O uso de estratégias de manejo, como mamada controlada, desmame precoce e estação de monta podem melhorar a eficiência reprodutiva (De Carvalho, 2001; Hernandez et al., 2001; Rocha & Ratti Júnior, 2005). Neste experimento, verificou-se estratégia com o emprego de protocolos à base de progesterona e estrógenos em vacas de corte no período pós-parto foram capazes de promover a manifestação de estro, a sincronização da ovulação e ativação da ciclicidade ovariana, abreviando o período de anestro, conforme proposto por Pratt et al. (1991). Assim, o uso dos protocolos hormonais para melhorar a eficiência reprodutiva em vacas de corte no pós-parto em início de estação de monta foi eficiente pela taxa de prenhez acumulada verificada na curta estação de monta de 70 dias.

Penteado et al. (2005) verificaram que o uso estratégico da IATF em vacas Nelore lactantes como ferramenta de manejo reprodutivo promove antecipação da concepção (aproximadamente 1 mês) e incremento ao redor de 8% na taxa de prenhez ao final da estação de monta, além de aumentar o número de vacas prenhes por IA. Foi

verificado no presente experimento o efeito satisfatório do uso da IATF, sobretudo destacando o fato de associá-lo à redução de dias no período de serviço.

Em dois estudos (Baruselli et al., 2002; Marques et al., 2003) foi verificado baixo percentual de vacas de corte lactantes ciclando entre 60 a 70 dias pós-parto, 24,3% (52/214 vacas Nelore) e 14,0% (7/50 vacas Nelore/Angus), respectivamente. Ruiz-Cortez & Oliveira-Angel (1999) também verificaram que fêmeas zebuínas lactantes criadas a pasto restabeleceram a ciclicidade ovariana somente entre 217 e 278 dias pós-parto, apresentando intervalo de partos de 17 a 19 meses. Já o estado de ciclicidade das vacas utilizadas neste experimento com a média de 66,5 dias pós-parto indicou que a maior parte delas (90%) estava ciclando. Entretanto, de maneira geral, para a obtenção de eficiência reprodutiva satisfatória é indispensável o bom manejo da propriedade, uma vez que as características reprodutivas são de baixa herdabilidade e, conseqüentemente, influenciadas pelo meio e, principalmente, pelo manejo nutricional (Vasconcelos, 1999b). Estima-se que aproximadamente 80% da variação na fertilidade são devidos aos fatores ambientais, dos quais mais de 50% são explicados pela nutrição (Lotthammer, 1991).

Foi realizada a correlação de Spearman entre prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada e as variáveis peso corporal, condição corporal, período de serviço e presença de corpo lúteo nas vacas (Tabela 10). O peso corporal (PC) das vacas prenhas do TControle+TBE8, TControle+TBE9, TSuplemento+TBE8 e TSuplemento+TBE9 foi 413,32±12,42; 434,56±13,52; 439,14±11,80; e 417,57±11,80 kg; respectivamente. Observou-se correlação negativa ($P<0,05$) do peso corporal das vacas no dia da IATF, significando que a taxa de prenhez foi maior nas vacas com menor peso. Como a condição corporal avaliada em escores era satisfatória, o menor peso corporal das vacas refletiu em animais de menor tamanho corporal, refletindo positivamente em taxas de prenhez.

A condição corporal (CC) das vacas prenhas foi 4,94±0,80 (média±desvio-padrão); não apresentando correlação ($P>0,05$) com a prenhez. O resultado contradiz a proposição de Moreira et al. (2000). O uso do eCG com maior eficiência em vacas com menor avaliação da condição corporal pode justificar este resultado (Baruselli et al., 2004).

A variável período de serviço não apresentou ($P>0,05$) correlação com a prenhez, sendo o período para as vacas prenhas de 66,75±11,13 (média±desvio-padrão) dias. A sincronização da ovulação para a IATF possibilita que as vacas sejam inseminadas e fiquem prenhas no início da estação de monta, diminuindo o período de

serviço e aumentando a eficiência reprodutiva do rebanho. Baruselli et al. (2002) relatou que a IATF reduziu em 39,3 dias o período de serviço em relação à inseminação convencional, antecipando o parto e beneficiando a estação de monta do próximo ano. Pode ser notado pelos protocolos que não houve tendência de ser mais eficiente em vacas com determinado período pós-parto das vacas, as quais apresentavam variações de 55,62 a 77,88 dias. Assim, a IATF é uma ferramenta eficiente para controlar o período de serviço, ou seja, a eficiência reprodutiva de rebanhos nas condições deste experimento.

Tabela 10. Correlação de Spearman entre prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada e as variáveis peso corporal (PC), condição corporal (CC), período pós-parto (PP) e a condição fisiológica de anestro nas vacas

| Prenhez | PC (kg) | CC (1-9) | PP (dias) | Anestro |
|--------------------|---|--------------------|---------------------|--------------------|
| IATF | -0,2822 ¹ (0,0044) ² | 0,0393 (0,6977) | 0,1717 (0,0876) | 0,1239 (0,2193) |
| Repasse por touros | -0,0330 (0,8260) | 0,1687 (0,2569) | -0,0613 (0,6823) | 0,0081 (0,9567) |
| Acumulada | -0,1573 (0,1182) | 0,1077 (0,2864) | 0,0602 (0,5520) | 0,0772 (0,4451) |

¹Coeficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Não houve correlação ($P > 0,05$) entre as vacas da condição fisiológica de anestro, (estimada pela ausência de corpo lúteo na inserção do dispositivo de progesterona) com a prenhez. Assim, os dados corroboram com Baruselli et al. (2004) de que o uso destes protocolos de IATF ou semelhantes para sincronização da ovulação, destacando a ação do hormônio eCG, é eficiente na taxa de prenhez mesmo em vacas em anestro na IATF ou na retomada da ciclicidade a curto prazo para fecundação.

Em trabalhos com bovinos deve-se evitar ao máximo o manejo com os animais em currais para diminuir o estresse. Essa meta foi obtida com o uso do BE no dia 8. Ayres et al. (2006a) também atingiram o objetivo da redução de um dia no manejo com as fêmeas, avaliando o efeito da substituição do BE 24 horas após a retirada do Crestar (4 manejos para IATF) pelo cipionato de estradiol no momento da retirada (3 manejos para IATF). O resultado foi indicativo de que o cipionato de estradiol na dose de 1,0 mg pode ser utilizado como indutor de ovulação em programas de IATF em vacas Nelore e possibilita a redução do número de vezes que os animais necessitam ser manejados (de 4 para 3 vezes), pois a taxa de prenhez foi 47,1% (56/119 vacas), não diferindo da taxa de prenhez dos animais com o uso de BE no dia 9, 46,7% (57/122 vacas).

Conclusões

A dinâmica folicular, a taxa de prenhez na IATF, no repasse por touros e, conseqüentemente, a taxa de prenhez acumulada não é influenciada pela sincronização da ovulação utilizando protocolos com administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável ou com intervalos de 0 e 24 horas da administração do benzoato de estradiol à retirada do dispositivo de progesterona.

Recomenda-se o emprego do protocolo com administração de benzoato de estradiol no dia 0 e 8, por necessitar de um dia de manejo a menos, diminuindo a mão-de-obra.

Literatura citada

- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP, 2008. 385p.
- AYRES, H.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; PENTEADO, L. et al. Efeito do momento da inseminação e do tratamento com GnRH na IATF sobre a taxa de concepção de vacas de corte lactantes sincronizadas com norgestomet e valerato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34 (Suppl.1), p.408, 2006a.
- BALDWIN, R.L.; CALVERT, C.C.; HANIGAN, M.D. et al. Modelling Amino Acid Metabolism in Ruminants. In: **Amino Acids in Farm Animal Nutrition**. J.P.F D'Mello. Cab International, Edinburg, UK., p.281-306, 1994.
- BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A. et al. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF_{2α} and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.53, n.5, p.1121-1134, 2000.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.26, n.3, p.218-221, 2002.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, n.1-4, p. 479-486, 2004.
- BÓ, G.A.; MARTÍNEZ, M.; NASSER, L.F. et al. Follicular dynamics in *Bos indicus* and *Bos taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 10, 1993, Campo Grande. **Proceedings ... Campo Grande, MS: (s.n.)**, v.2, p.221, 1993.
- BÓ, G.A.; ADAMNS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol 17β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Exogenous control of follicular development in cattle. **Theriogenology**, v.43, n.1, p.31-40, 1995a.

- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, n.3, p.193-204, 1995b.
- BÓ, G.A.; TEGLI, J.C.; CUTAIA, L. et al. Fixed-time artificial insemination in braford cows treated with progesterone releasing devices and eCG or estradiol benzoate. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.28, n.1, p.209, 2000.
- BORGES, L.F.K.; FERREIRA, R.; SIQUEIRA, L.C. et al. Artificial insemination system without estrous observation in suckled beef cows. **Ciencia Rural**, v.39, n.2, p.496-501, 2009.
- CACCIA M.; BÓ, G.A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, n.1, p.341, 1998.
- COLAZO, M.G; GAVAGA, Q.A.; KASTELIK, J.P. et al. The effects of estradiol cypionate at CIDR removal and interval to fixed-time AI on pregnancy rates in beef cattle. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.215, 2003 (abstract).
- CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D. et al. Effect of eCG treatment in postpartum beef cows synchronized with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and inseminated at a fixed-time. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.216, 2003 (abstract).
- CUTAIA, L.; BALLA, E.; BÓ, G.A. Efecto del momento de la administración de benzoato o cipionato de estradiol para inducir la ovulación en vaquillonas tratadas con DIB e inseminadas a tiempo fijo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, VI, 2005, Córdoba. **Anais...** Córdoba: (s.n.), 2005a.
- CUTAIA, L.; ALISIO, L.; BERTERO, F. et al. Tasas de preñez em vaquillonas y vacas sincronizadas con DIB y benzoato de estradiol em el momento de retiro del dispositivo ó 24 h mas tarde. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, VI, 2005, Córdoba. **Anais...** Córdoba: (s.n.), 2005b.
- CUTAIA, L.; PERES, L.; PINCINATO, D. et al. Influência do diâmetro uterino, tamanho do ovário e estruturas ovaricas sobre a fertilidade das novilhas cruza Bonsmara de 15 meses de idade inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.1, p387, 2006 (abstract).
- DE CARVALHO, L.F.M. Efeitos do desmame aos sessenta dias sobre a atividade reprodutiva pós-parto e o desenvolvimento ponderal dos bezerros em vacas de corte primíparas. 2001, 69p. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, SP, 2001.
- DIAS, F.M.G.N. Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas. 1991, 100f., **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da UFMG: Belo Horizonte, 1991.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, n.8, p.1489-1505, 1997.
- FONTES, R.R.; SANTOS, I.C.C.; VALENTIM, R. et al. Resultados de programas de IATF com o uso de 2 tipos de dispositivos de liberação lenta de 1g de progesterona (PRIMER[®] E DIB[®]). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.s1150, 2007.

- GARRETT, G.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, n.2, p. 437–446, 1988.
- GATTI, G.; MARTÍNEZ, M.; MAPLETOFT R. et al. Efecto del momento de aplicación de gonadotrofina corionica equina combinada o no con benzoato de estradiol en programas de inseminación artificial a tiempo fijo utilizando implantes de progestageno. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 3., 1999, Córdoba. **Anais...** Córdoba: (s.n.), 1999. p.194, 1999.
- HERNANDEZ, P.P.; REAL, C.S.D.; SÁNCHEZ, J.G. Anestro postparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito en trópico. **Investigation Agricultura Produccion Sanidad Animal**, v.16, n.2, p. 257-270, 2001.
- KINDER, J.E.; KOJIMA, F.N.; BERGFELD, E.G. et al. Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, n.6, p.1424-1440, 1996.
- LAMMOGLIA, M.A.; SHORT, R.E.; BELLOWS, S.E. et al. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}. **Journal of Animal Science**, v.76, n.6, p.1662-1670, 1998.
- LITER, M. Farmacologia del metabolismo de las proteínas simples y de las nucleoproteínas. In: **Compêndio de Farmacologia**. El Ateneo, Ed. Buenos Aires, p.705, 1978.
- LOTTHAMMER, K.H. Influence of nutrition on reproductive performance of the milking/gestating cow in the tropics. Feeding dairy cows in the tropics. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/003/t0413e/t0413e00.HTM> Acesso em: 07/09/2009.
- MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in the cow. **Veterinary Journal**, v.171, n.3, p.500–503, 2006.
- MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: past, present and future. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: (s.n.), 2008. p.15-25, 2008.
- MARQUES, M.O; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P. et al. Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, V, 2003, Huerta Grande, **Anais...** Huerta Grande: v.1, 2003, p. 392, 2003.
- MARTINS, C.M.; MELLO, J.E.; DOMINGUEZ, J.H. et al. Taxas de concepção de vacas nelore lactentes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado a diferentes momentos de aplicação de benzoato de estradiol e de inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.1, p.386, 2006 (abstract).
- MIALOT, J.P.; CONSTANT, F.; DEZAUX, P. et al. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF_{2α} + GnRH and PRID + PGF_{2α} + eCG. **Theriogenology**, v.60, n.2, p.319-330, 2003.
- MIHM, M.; AUSTIN, E.J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, n.2, p.155-166, 2002.

- MOREIRA, F.; RISCO, C.; PIRES, M.F.A. et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. **Theriogenology**, v.53, n.6, p.1305-1319, 2000.
- MURTA, J.E.J.; ANDRADE, V.J.A. Taxas de prenhez de vacas de corte inseminadas artificialmente a tempo fixo utilizando diferentes doses de análogo do GnRH. Disponível em: <<http://www.echo.com.br/media/pdf/drjosemurta.pdf>> Acesso em 31/08/2009.
- MUSSARD, M.L.; BURKE, C.R.; BEHLKE, E.J. et al. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.4, p.937-943, 2007.
- NORTE, A.L.; NORTE, H.L.P.; CORRÊA, I. Trabalho com Aminofort na fase de fertilidade na fazenda lagoa grande, município de Medeiros Neto – BA, 2005. Disponível em: <http://www.vitafort.com.br/imgs/trabalho_campo/1158090342_TAC_Amino03.doc?PHPSESSID=86c89078305361c4b222a8be020fbabe> Acesso em: 31/08/2009.
- PENTEADO, L.; SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L. et al. Eficiência reprodutiva em vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes submetidas a diferentes manejos durante a estação de monta. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, XVI, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: (s.n.), 2005.
- PINCINATO, D.; PERES, L.C.; MARAÑA PEÑA, D. et al. Porcentaje de preñez en vacas con cria al pie tratadas con distintos protocolos de sincronización de la ovulación utilizando dispositivos con progesterona. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, VI, 2005, Córdoba. **Anais...** Córdoba: (s.n.), 2005.
- PRATT, S.L.; SPITZER, J.C.; BURNS, G.L. et al. Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **Journal of Animal Science**, v.69, n.7, p.2721-2726, 1991.
- RHODES, F.M.; FITZPATRICK, L.A.; ENTWISTLE, K.W. et al. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.104, n.1, p.41-49, 1995.
- ROCHA, G.P.; RATTI JÚNIOR, J. Estação de Monta: algumas considerações de importância. 2005. 4p. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/?noticiaID=22219&actA=7&areaID=60&secaoID=181>> Acesso em: 15/07/2009.
- RUIZ CORTEZ, Z.T.; OLIVEIRA ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal of Reproduction Science**, v.54, n.4, p. 211-220, 1999.
- SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 9.0), SAS Inst., Inc., Cary, NC. 2001.
- SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; VIEL Jr.; J.O. et al. Dinâmica folicular de vacas Nelore lactantes em anestro tratadas com progestágeno, eCG e GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (Supl.1), p.235, 2004.
- SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R. et al. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.98, n.1, p.77-84, 1993.

- SCHMITT, E.J.P.; DIAZ, T.C.; DROST, M. et al. Use of a GnRH agonist on human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, n.5, p.1084-1091, 1996.
- SELK, G.E.; WATTERMAN, R.P.; LUSBY, K.S. et al. Relationships among weight change in body condition and reproductive performance of rang beef cows. **Journal of Animal Science**, v.66, n.12, p.3153-3159, 1988.
- SINCLAIR, K.D.; MOLLE,G.; REVILLA, R. et al. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 post partum in suckling beef cows. **Animal Science**, v.75, n.1, p.115-126, 2002.
- VASCONCELOS, J.L.M.; SANTOS, R.M.; COSTA, D.A. et al. Effects of progesterone concentration on size of the ovulatory follicle and double ovulation rate in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.1, p.99, 1999a (Abstract).
- VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, n.6, p.1067-1078, 1999b.
- WILLIAMS, G.L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.831-852, 1990.
- WILTBANK, J.N.; ROWDEN,W.W.; INGALS, J.E. et al. Effect of energy level on reproduction phenomena of mature Hereford cows. **Journal of Animal Science**, v.21, n.2, p.219, 1962.
- WILTBANK, J.N.; ZIMMERMAN. D.R.; INGALLS, J.E. et al. Use of progestational compounds alone or in combinations with estrogen for synchronization of estrus. **Journal of Animal Science**, v.20. n.4, p.990-994, 1965.

DINÂMICA FOLICULAR E TAXA DE PRENHEZ NA SINCRONIZAÇÃO DE OVULAÇÃO ASSOCIADO À ADMINISTRAÇÃO DE FSH-P EM VACAS DA RAÇA NELORE

Resumo: Objetivou-se verificar a dinâmica folicular e eficiência de protocolos hormonais na sincronização de ovulação com uso de FSH-p para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) em vacas da raça Nelore. No experimento I, avaliou-se a dinâmica folicular, utilizando 30 vacas em três tratamentos: TeCG (n=10) – no dia 0, inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (Primer[®]) mais 2 mg de benzoato de estradiol (BE, RIC BE[®]), intramuscular (IM); no dia 8, remoção do dispositivo e aplicação 300 UI de eCG (Novormon[®]) IM, 0,15 mg de PGF_{2α} (Prolise[®]) e 1 mg de BE; no dia 10, realizou-se a IA 48 h após a remoção do dispositivo; TFSH48 (n=10) – similar ao tratamento anterior, sendo a dose de eCG substituída por 10 mg NIH de FSH-S1 (FSH-p, Folltropin[®]); TFSH42 (n=10) – similar ao TFSH48, sendo a IA realizada 42 h após a retirada do dispositivo. No experimento II, verificou-se a eficiência reprodutiva em tratamentos similares aos do experimento I: TeCG= 33 vacas; TFSH48= 32 vacas; TFSH42= 32 vacas. Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado a 5% de probabilidade. No experimento I, não foi observada (P>0,05) diferença na média de folículos por animal (11,93±2,67), no diâmetro do maior (9,63±1,54 mm), no diâmetro do segundo maior folículo (7,20±1,14 mm), na taxa de crescimento do folículo ovulatório (0,07±0,04 mm/h) e na taxa de ovulação (83,33%). Os animais do TeCG apresentaram menor intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (51,40 e 3,40 h, respectivamente). No experimento II, a taxa de prenhez das vacas não diferiu (P>0,05) entre os tratamentos (TeCG= 54,54; TFSH48= 53,12; TFSH42= 62,50%). Portanto, o uso de eCG ou FSH-p não diferenciam em efeitos sobre a dinâmica folicular e eficiência reprodutiva em programas de IATF.

Palavras-chave: biotecnologia, bovinos, fertilidade, folículo, hormônios, inseminação artificial

FOLLICULAR DYNAMICS AND PREGNANCY RATES IN OVULATION SYNCHRONIZATION ASSOCIATED TO FSH-P ADMINISTRATION IN NELORE BEEF COWS

Abstract: The objective was to verify follicular dynamics and reproductive efficiency of hormonal protocols on the synchronization of ovulation using pFSH for Timed Artificial Insemination (TAI) in Nelore cows. In the experiment I, follicular dynamics was evaluated using 30 cows in three treatments: 1) TeCG (n=10) – on day 0, insertion of intravaginal progesterone devices (Primer[®]) plus 2 mg benzoate of estradiol (BE, RIC BE[®]), intramuscularly (IM); on day 8, devices removal and 300 IU eCG (Novormon[®]) IM, 0.15 mg PGF_{2α} (Prolise[®]) and 1 mg of BE; on day 10, AI was performed 48 h after devices removal; 2) TFSH48 (n=10) – similar to previous treatment, but instead of eCG, 10 mg NIH FSH-S1 (FSH-p, Folltropin[®]) was done; TFSH42 (n=10) – similar to TFSH48, but AI was performed 42 h after devices removal. In the experiment II, reproductive efficiency was evaluated in treatments similar to those of experiment I: TeCG= 33 cows; TFSH48= 32 cows; TFSH42= 32 cows. Statistical analysis was performed using SAS[®] 9.0 program with 5% of probability. In the experiment I, it was not observed (P>0.05) any difference on the average number of follicles per cow (11.93±2.67), on the diameter of the largest follicle (9.63±1.54 mm), of the second largest (7.20±1.14 mm), in the ovulatory follicle growth rate (0.07±0.04 mm/h) and in the ovulation rate (83.33%). Animals of TeCG showed inferior interval from devices removal and TAI to ovulation (51.40 and 3.40 h, respectively). In the

experiment II, conception rate did not differ ($P>0.05$) among treatments (TeCG= 54.54; TFSH48= 53.12; TSFH42= 62.50%). Therefore, the use of eCG or pFSH are similar regarding effects on the follicular dynamics and reproductive efficiency in TAI programs.

Keywords: artificial insemination, biotechnology, cattle, fertility, follicle, hormones

Introdução

O rebanho nacional é estimado em 169 milhões de bovinos com aproximadamente 80% de gado *Bos taurus indicus*, sendo 69 milhões de vacas e fêmeas em idade de reprodução (Anualpec, 2008) e a inseminação artificial (IA) é empregada apenas em menos de 7% do rebanho.

A fertilidade do período pós-parto é influenciada negativamente pela incidência de anestro, indicando condições de nutrição inadequada no peri-parto ou condições patológicas nos órgãos reprodutivos. A duração do anestro pós-parto influencia o desempenho reprodutivo pela permanência de vacas subfêrteis e improdutivas nos rebanhos (Neves et al., 1999; Yavas & Walton, 2000). Entre as alternativas para melhorar os índices de fertilidade no pós-parto há o uso de programas hormonais para induzir a ciclicidade, minimizar os efeitos ambientais e da amamentação. As associações hormonais adotadas em protocolos de sincronização de estro e/ou ovulação, permitem adequações em diferentes sistemas e controle reprodutivo em diferentes épocas do ano.

Um fator que interfere na taxa de prenhez de vacas submetidas a protocolos de IATF é o diâmetro do folículo pré-ovulatório quando a ovulação é induzida. Quanto menor o diâmetro do folículo, menor a probabilidade de concepção, pois há estreita relação entre o diâmetro do folículo e o volume do corpo lúteo, que irá refletir nos níveis sanguíneos de progesterona (Vasconcelos et al., 1999; Colazo et al., 2003; Mussard et al., 2007). Dessa forma, a taxa de prenhez em fêmeas submetidas à IATF pode ser comprometida na indução da ovulação de pequenos folículos, podendo não ocorrer ovulação ou, ainda, formando pequenos corpos lúteos, ocorrendo menor síntese de progesterona (Garret et al., 1988; Mann et al., 2006).

A associação de hormônios com ação folículo estimulante, gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) ou hormônio folículo estimulante de origem suína (FSH-p), no momento da remoção do dispositivo de progesterona em protocolos de sincronização de ovulação podem estimular o crescimento folicular (Baruselli et al., 2004; Kenny et al., 2006). Conseqüentemente, há a formação de um maior corpo lúteo e tem-se maior síntese de progesterona, aumentando a taxa de prenhez.

Objetivou-se comparar o uso de estímulos gonadotróficos exógenos entre eCG ou FSH-p e avaliar o intervalo da administração de FSH-p à IATF em vacas de corte da raça Nelore quanto a dinâmica folicular e eficiência reprodutiva.

Material e Métodos

O estudo foi realizado na fazenda experimental de bovinocultura de corte do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, município de Viçosa, estado de Minas Gerais. A propriedade localiza-se nas coordenadas geográficas de 20°45'14" Sul, 45°52'40" Oeste e 658 m de altitude, de clima tipo Cwb, segundo o sistema köppen, ou seja, mesotérmico com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos. A temperatura média anual é de 21,8°C e a precipitação pluviométrica de 1.221 mm.

Foram utilizadas vacas lactantes da raça Nelore em período de estação de monta (dezembro de 2006 a março de 2007), primíparas e multíparas, apresentando histórico de boa fertilidade e clinicamente sadias, mantidas em único lote, em pastagens de capim *Brachiaria decumbens*, recebendo suplementação com mistura mineral e água à vontade.

Foram realizados dois experimentos em delineamento inteiramente casualizado. No experimento I, foram realizadas as avaliações da dinâmica folicular e no experimento II avaliou-se a eficiência reprodutiva das fêmeas submetidas aos efeitos hormonais dos protocolos de sincronização de ovulação.

No experimento I, foram utilizadas 30 vacas lactantes, distribuídas em três tratamentos: 1) TeCG (n=10 vacas) – no dia 0, inserção de dispositivo intravaginal de progesterona⁶ mais 2 mg de benzoato de estradiol⁷ intramuscular (IM); no dia 8, remoção do dispositivo e aplicação IM de 300 UI de eCG⁸, 0,15 mg de PGF_{2α}⁹ e 1 mg de BE; no dia 10, realizou-se a IA 48 h após a remoção do dispositivo; 2) TFSH48 (n=10) – similar ao tratamento anterior, sendo a dose de eCG substituída por 10 mg de FSH-p¹⁰; e 3) TFSH42 (n=10) – similar ao TFSH48, sendo a IA realizada 42 h após a retirada do dispositivo (Figura 1).

⁶ 1,0 g de Progesterona, PRIMER[®], Tecnopec, Brasil.

⁷ 1 mg/mL Benzoato de estradiol, RIC BE[®], Syntex S.A., Argentina.

⁸ 200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), Novormon[®], Syntex S.A., Argentina.

⁹ 0,75 mg/mL d-Cloprostenol, Prolise[®], ARSA S.R.L., Argentina.

¹⁰ 20 mg/mL NIH-FSH-P1, Folltropin[®]-V, Bioniche Animal Health Canadá Inc., Canadá.

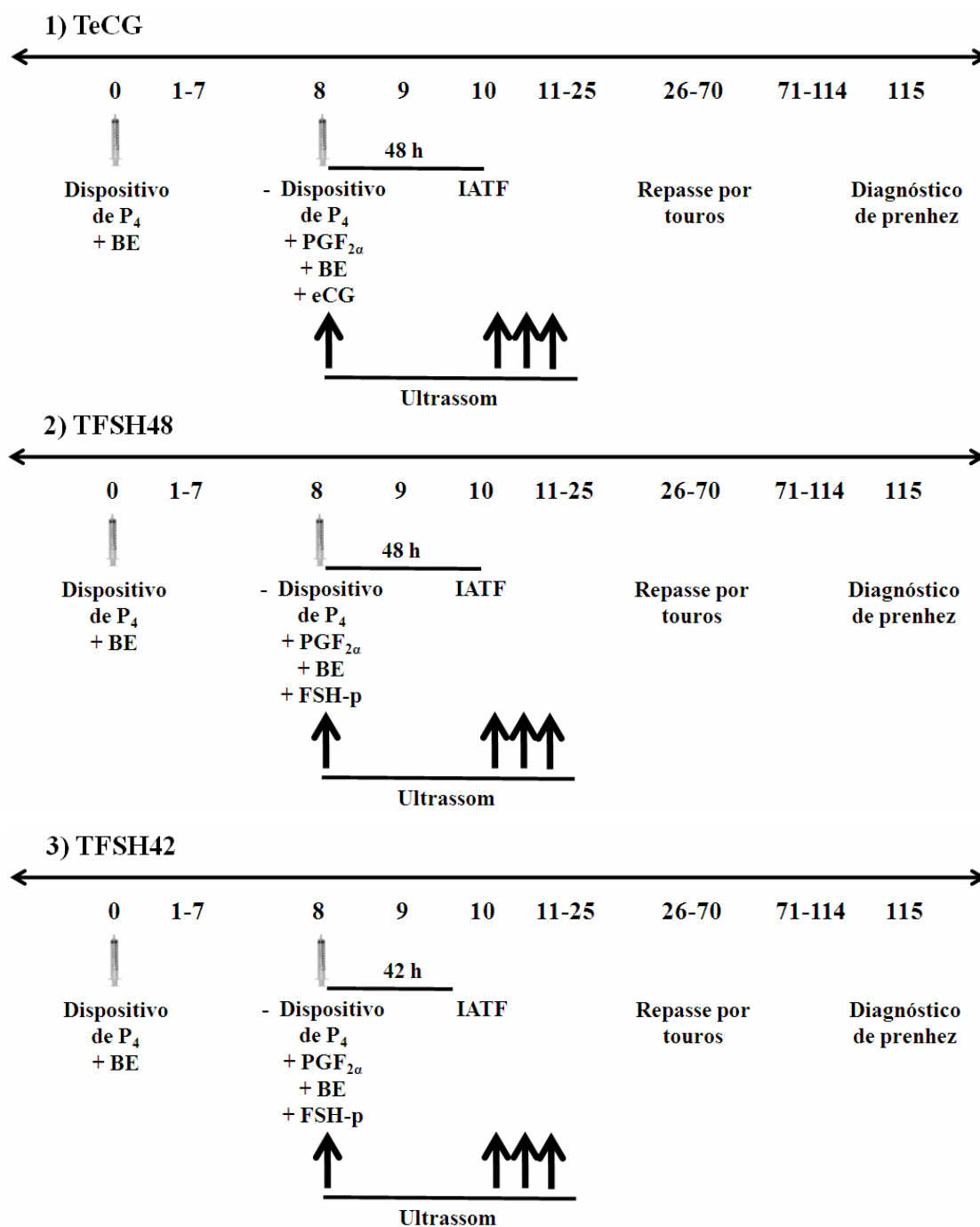


Figura 1. Esquema de aplicação dos tratamentos durante o período experimental.

Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 8 (Dia 8), no momento da IATF (IATF), e após a IATF o acompanhamento da dinâmica folicular foi até a determinação da ovulação, caracterizada pela ausência do folículo ovulatório, em intervalos de 12 h de manhã e à tarde (IATF + 12 h, IATF + 24h, ou mais avaliações se necessárias), com um aparelho portátil de ultrassom¹¹ acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz. A partir da ausência do folículo ovulatório, estimou-se o tempo para

¹¹ Chison® 500 Vet.

ovulação após a IATF, pela soma dos intervalos das avaliações sendo o último intervalo dividido por dois. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro em: pequenos (FP < 6 mm), médios (FM de 6 a 8,0 mm) e dominantes (FD > 8,0 mm). Os corpos lúteos foram classificados de acordo com o tamanho da área em: < 1 cm², de 1 a 2 cm², de 2 a 3 cm², de 3 a 4 cm² e > 4 cm².

No experimento II, o delineamento foi similar ao do experimento I. As vacas apresentaram peso vivo inicial de 427,12±6,21 kg, período pós-parto de 71,84±1,66 dias, ordem de parto de 1,74±0,04 e escore de condição corporal de 4,86±0,08 (CC; escala de um a nove; Dias, 1991). Os animais foram distribuídos uniformemente para essas características. As vacas foram distribuídas nos três tratamentos propostos do experimento I na seguinte quantidade: TeCG= 33 vacas, TFSH48= 32 vacas e TFSH42= 32 vacas.

Após 15 dias da realização da IATF, as vacas foram submetidas à monta natural durante os últimos 45 dias da estação de monta. Foram utilizados touros de fertilidade comprovada por exame andrológico. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após o final da estação de monta (105 dias após a IATF) por palpação retal e calculadas as taxa de prenhez na IATF (vacas prenhes/total de vacas do tratamento), no repasse por touros (vacas prenhes acasaladas com touros/total de vacas vazias do tratamento na IATF) e acumulada (soma das vacas prenhas na IATF ou no repasse por touros/ total de vacas do tratamento).

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando-se sêmen de dois touros da raça Nelore, oriundos da mesma central de sêmen, associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

Para todas as análises estatísticas, utilizou-se o programa SAS 9.0 (2001) a 5% de probabilidade. Os intervalos da retirada do dispositivo (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV), diâmetro do maior e do segundo maior folículo no dia 10 e taxa de crescimento folicular foram analisadas por análise de variância por delineamento inteiramente casualizado.

A classificação folicular foi analisada em parcela subdividida com efeito do tratamento na parcela e da hora de observação na subparcela com comparação das médias pelo teste de Tukey.

As taxas de prenhez (na IATF, por repasse de boi e a acumulada) foram submetidas à análise logística.

Foi realizada correlação de Spearman entre prenhez e diâmetro do maior e do segundo maior folículo e taxa de crescimento folicular das vacas utilizadas para a

avaliação da dinâmica folicular. Também foi realizada correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, no repasse por touros e acumulada) e o peso corporal (PC), escore de condição corporal (CC), período pós-parto (PP) e condição fisiológica (anestro) das vacas no início do experimento I.

Resultados e Discussão

No experimento I, houve interação ($P < 0,05$) entre os tratamentos (TeCG, TFSH48 e TFSH42) e momento de avaliação para os folículos menores que 6 mm (< 6 mm, Tabela 1). A retirada do dispositivo de progesterona (Dia 8) corresponde à fase de início da divergência folicular, ou seja, quando está ocorrendo a seleção do folículo dominante e iniciando a atresia dos folículos subordinados. Assim, foi verificada a atresia dos folículos < 6 mm nas vacas do TeCG e TFSH48, o que não foi observado nas vacas do TFSH42. As vacas submetidas ao TeCG e ao TFSH48 tiveram melhor resposta ao efeito de dominância dos folículos ovulatórios.

Tabela 1. Classificação folicular em função dos tratamentos

| Momento de Avaliação | Tratamento ^{1,2} | | | Média |
|--------------------------------|---------------------------|-------------|-------------|------------|
| | TeCG | TFSH48 | TFSH42 | |
| Diâmetro folicular < 6 mm | | | | |
| Dia 8 | 8,60±0,64aA | 6,10±0,64aA | 6,20±0,64aA | - |
| IATF | 1,10±0,64bB | 2,00±0,64bB | 5,50±0,64aA | - |
| IATF + 12 h | 0,70±0,64bB | 1,20±0,64bB | 5,20±0,64aA | - |
| Média | - | - | - | - |
| Diâmetro folicular de 6 a 8 mm | | | | |
| Dia 8 | 4,50±0,40 | 4,50±0,40 | 3,40±0,40 | 4,13±0,23A |
| IATF | 3,50±0,40 | 2,40±0,40 | 1,50±0,40 | 2,47±0,23B |
| IATF + 12 h | 3,20±0,40 | 1,80±0,40 | 0,80±0,40 | 1,93±0,23B |
| Média | 3,73±0,23a | 2,90±0,23b | 1,90±0,23c | |
| Diâmetro folicular > 8 mm | | | | |
| Dia 8 | 0,40±0,24 | 0,30±0,24 | 0,40±0,24 | 0,37±0,14B |
| IATF | 1,50±0,24 | 2,00±0,24 | 1,20±0,24 | 1,57±0,14A |
| IATF + 12 h | 1,20±0,24 | 1,70±0,24 | 0,70±0,24 | 1,20±0,14A |
| Média | 1,03±0,14ab | 1,33±0,14a | 0,77±0,14b | |

¹TeCG= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH48= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH42= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 42 h após a retirada do PRIMER. ²Médias seguidas de letras minúsculas ou maiúsculas diferentes na mesma linha ou coluna, respectivamente, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Com a administração de benzoato de estradiol associada à inserção de dispositivo de progesterona, há potencialização do efeito supressor do crescimento do folículo dominante pelas elevadas concentrações de progesterona. O mecanismo desse

efeito parece estar envolvido à supressão de FSH (Bó et al. 1994) e de LH (Mapletoft et al., 2008). Portanto, a utilização do estradiol no início do protocolo de sincronização de estro consiste em suprimir o desenvolvimento folicular existente pelo aumento nas concentrações de estradiol plasmático que, por sua vez, ocasiona uma redução nas concentrações de FSH. Assim, o tratamento com dispositivo de progesterona associado ao BE, administrados em qualquer momento do ciclo estral, induzem o crescimento síncrono de nova onda folicular, aproximadamente quatro dias após (Bó et al., 1995b; Caccia & Bó, 1998).

À medida que os folículos crescem e passam pela fase de divergência folicular, há dependência decrescente de FSH e crescente de LH. Esta mudança na dependência das gonadotrofinas deve-se ao aumento na quantidade de expressão de mRNA e ao número de receptores de LH nas células da granulosa do folículo dominante (Ireland et al., 1983; Xu et al., 1995). No ciclo estral, baixas concentrações de FSH no momento da divergência são importantes na definição do folículo dominante, embora quanto maior a concentração de FSH, maior o crescimento do folículo ovulatório (Bergfelt et al., 2000). Devido a esse fator, utiliza-se o eCG ou o FSH-p no dia 8.

O hormônio eCG tem a capacidade de se ligar tanto aos receptores de FSH quanto de LH (Murphy & Martinuk, 1991) e possui meia-vida longa na circulação sanguínea. Contudo, a molécula de eCG é de alto peso molecular e induz a formação de anticorpos anti-eCG se usado em aplicações repetidas. O FSH-p é uma alternativa ao uso de eCG por apresentar reação imunológica menor e por apresentar maior disponibilidade e aceitação em vários países (Santos et al., 2007a).

O uso do FSH-p para indução e sincronização de estro e ovulação nas espécies ovina e caprina tem sido proposto como uma forma de substituição ao uso do eCG. A fonte de FSH é obtida por extrato purificado de hipófise suína, tendo atividade de 84% FSH e 16% LH, relação ainda mais segura do que a proporção existente no eCG (75% FSH e 25% LH). Ambos os hormônios atuam sobre o estímulo e crescimento folicular permitindo um completo desenvolvimento dos folículos e a ovulação ao término do protocolo. A vantagem do FSH-p, ao contrário do uso do eCG, está na menor formação de anticorpos pós tratamento, importante para receptoras e para animais que recebem vários tratamentos ao longo de sua fase produtiva (Carneiro, 2008). Assim, justificam-se as pesquisas com o FSH-p em protocolos de sincronização de ovulação, com o intuito de minimizar os problemas decorrentes de reação imunogênica.

Como não houve interação ($P > 0,05$) entre os tratamentos (TeCG, TFSH48 e TFSH42) e momento de avaliação para os folículos de 6 a 8 e > 8 mm (Tabela 1), é

importante destacarmos a eficiência desses protocolos de sincronização de ovulação pelo efeito de dominância do folículo ovulatório sobre os folículos médios, já que houve a atresia desses e o desenvolvimento médio de mais folículos > 8 mm (IATF= 1,57 folículos; IATF + 12 horas= 1,20 folículos). Embora não tenha sido notada diferença ($P>0,05$), as vacas submetidas aos protocolos TeCG e TFSH48 apresentaram maior média de folículos > 8 mm por fêmea, podendo ser esperada maior taxa de fecundação, devido a relação desta com o diâmetro do folículo ovulatório (Vasconcelos et al., 1999; Colazo et al., 2003; Mussard et al., 2007).

As fêmeas do TeCG apresentaram média de folículos de 6 a 8 mm (3,73 folículos) do dia 8 até a avaliação IATF + 12 h superior ($P>0,05$) às do tratamento TFSH48 (2,90 mm) e TFSH42 (1,90 mm). A ação prolongada do eCG foi eficiente quanto ao desenvolvimento dos folículos médios. Na avaliação dos folículos com diâmetro > 8 mm, a administração de FSH-p (1,44 mm) com o intervalo de 48 h foi capaz de desenvolver mais folículos do que nas vacas com intervalo de 42 h (0,77 mm). Por outro lado, as fêmeas do TeCG (1,03 mm) apresentaram a média da quantidade de folículos > 8 mm similar ($P>0,05$) aos dois tratamentos citados.

Não foi verificado efeito dos tratamentos ($P>0,05$) quanto ao diâmetro do maior folículo, do segundo maior folículo e da taxa de crescimento folicular por efeito dos protocolos de sincronização da ovulação das vacas (Tabela 2). Mesmo assim, foi notada a eficiência dos protocolos pelo desenvolvimento de folículos ovulatórios com diâmetros de 9,10 a 10,10 mm e taxa de crescimento de 1,44 a 1,97 mm/dia em vacas da raça Nelore.

Em avaliação do efeito do uso de 400 UI de eCG na dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) comprovadamente em anestro e sincronizadas para IATF, Baruselli et al. (2008) relataram registros de que o tratamento na retirada do implante auricular de progestágeno aumentou o diâmetro do folículo pré-ovulatório (12,2 vs. 10,4 mm). Relacionando ao que foi observado no presente experimento, o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios foram inferiores, podendo ser a dose de 300 UI de eCG utilizada não apresentar o mesmo efeito. Outro fator interessante que deve ser destacado é que o efeito do dia 8 ao dia 10 no desenvolvimento do folículo pré-ovulatório foi igual para os animais tratados com eCG ou FSH-p.

Tabela 2. Diâmetro do maior folículo no dia 8, do folículo pré-ovulatório e segundo maior folículo (mm) no dia 10 e taxa de crescimento folicular (mm/dia), segundo os tratamentos

| Item | Tratamento ¹ | | | Valor-P ² |
|------------------------------|-------------------------|-----------|------------|----------------------|
| | TeCG | TFSH48 | TFSH42 | |
| Diâmetro follicular | | | | |
| Dia 8 | | | | |
| Maior (mm) | 7,40±0,42 | 7,20±0,42 | 7,30±0,42 | 0,9455 |
| Dia 10 | | | | |
| Folículo pré-ovulatório | 9,70±0,49 | 9,10±0,49 | 10,10±0,49 | 0,3570 |
| Segundo maior (mm) | 7,50±0,36 | 7,40±0,36 | 6,70±0,36 | 0,2487 |
| Taxa de crescimento (mm/dia) | 1,73±0,30 | 1,44±0,34 | 1,97±0,30 | 0,5089 |

¹TeCG= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH48= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH42= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 42 h após a retirada do PRIMER. ²Teste F.

O tratamento com eCG na retirada do dispositivo de progesterona aumentou o diâmetro do folículo ovulatório em bovinos de corte em anestro (Sá Filho et al., 2004; Maranhão et al., 2006). O diâmetro do maior folículo no dia 10 das vacas do TeCG e TFSH48 foram inferiores, em contrapartida, o das vacas do TFSH42 foi similar à variação de diâmetros do maior folículo relatado por Figueiredo et al. (1997) em vacas *Bos taurus indicus* (10 a 12 mm). Em outras comparações, as vacas de ambos os tratamentos propostos apresentaram diâmetros inferiores aos relatados por Gradela et al. (2000) em vacas Nelore (11,80 a 13,60 mm), e por Savio et al. (1988) e Murphy et al. (1990) em vacas *Bos taurus taurus* (15 a 18 mm). Os valores encontrados também foram inferiores aos relatados no dia 10 da sincronização da ovulação de vacas Nelore, submetidas a protocolos de IATF controle, com 400 UI de eCG, com 10 µg e com 20 µg de FSH-p, que foram de 12,8±1,8; 13,5±2,1; 12,9±1,5; 12,9±1,3 mm, respectivamente. Os mesmos autores relataram taxa de crescimento folicular média de 0,73; 0,76; 0,72 e 0,78 mm/dia, respectivamente, inferior aos valores obtidos no presente estudo (Santos et al., 2007b).

As vacas submetidas à administração de FSH-p apresentaram maiores intervalos (P<0,05) da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV) do que as do TeCG (Tabela 3). Embora o intervalo ROV das vacas do TFSH42 tenha sido similar (P>0,05) ao das fêmeas do TeCG. Os intervalos observados foram inferiores aos relatados na sincronização da ovulação de vacas Nelore, submetidas a protocolos de IATF controle, com eCG, com 10 µg e com 20 µg de FSH-p, que foram de 75,0±6,6 h; 74,4±4,9 h; 72,4±6,9 h e 73,6±6,2 h, respectivamente (Santos et al., 2007b). Essa diferença nos dois experimentos pode ser explicada pelo

efeito da administração do BE no dia 8, antecipando a ovulação em relação à administração no dia 9.

Tabela 3. Intervalos da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV) e taxa de ovulação e prenhez em vacas, segundo os tratamentos

| Tratamento | ROV ² (h) | IATFOV ² (h) | Taxa de ovulação ³ (%) |
|------------|-------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| TeCG | 51,40±2,80b | 3,40±2,80b | 90,00 (9/10)a |
| TFSH48 | 62,20±2,80a | 14,20±2,80a | 70,00 (7/10)a |
| TFSH42 | 54,10±2,80ab | 12,10±2,80a | 90,00 (9/10)a |

¹TeCG= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH48= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH42= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 42 h após a retirada do PRIMER. ²Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). ³Teste χ^2 .

As taxas de ovulações nas fêmeas em que foi avaliada a dinâmica folicular, foi similar (P>0,05) nos três tratamentos, mas numericamente as vacas do TFS48 apresentaram menor taxa de ovulação.

A correlação entre a prenhez e a taxa de crescimento folicular foi negativa (P<0,05; Tabela 4), indicando que quanto maior a taxa de crescimento do dia 8 ao dia 10, menor a probabilidade de prenhez da fêmea. A maior taxa de crescimento folicular, observada nos efeitos dos hormônios com ação foliculo estimulante (eCG e FSH-p), seguido pela hipótese de maior corpo lúteo e maior síntese de progesterona, não correspondeu à maior eficiência dos protocolos de IATF, diferindo das proposições de Baruselli et al. (2004).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre prenhez e diâmetro do maior e do segundo maior foliculo e taxa de crescimento folicular das vacas utilizadas para a avaliação da dinâmica folicular

| | Diâmetro folicular | | Taxa de crescimento folicular |
|---------|--------------------|------------------------|-------------------------------|
| | Maior foliculo | Segundo maior foliculo | |
| Prenhez | 0,0719 (0,7057) | -0,2566 (0,1712) | -0,5706 (0,0029) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

No experimento II, não houve efeito (P<0,05) dos tratamentos TeCG, TFSH48 e TFSH42 para as taxas de prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada das vacas. As taxas de prenhez na IATF são consideradas satisfatórias, com variações de 54,55 a 65,00% (Tabela 5). Entre as que ficaram vazias na IATF e tornaram-se prenhas após o repasse por touros, a variação entre as vacas dos tratamentos foi de 55,56 a

60,00%, constituindo-se em taxas satisfatórias também. A taxa de prenhez acumulada variou de 80,00 a 85,00%, numa estação de monta de 70 dias. Portanto, esse índice foi muito considerável em termos de eficiência reprodutiva e econômica para rebanhos de corte.

Tabela 5. Taxa de prenhez na IATF, após o repasse por touros e acumulada das vacas, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | Taxa de prenhez | | |
|-------------------------|--|--------------------|------------------|
| | IATF | Repasse por touros | Acumulada |
| TeCG | 54,55 ² (18/33) ³ | 60,00 (9/15) | 81,82 (27/33) |
| TFSH48 | 55,00 (22/40) | 55,56 (10/18) | 80,00 (32/40) |
| TFSH42 | 65,00 (26/40) | 57,14 (8/14) | 85,00 (34/40) |
| Valor-P ³ | 0,5712 | 0,9671 | 0,8375 |

¹TeCG= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH48= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 48 h após a retirada do PRIMER; TFSH42= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE + FSH-p; D10, IATF 42 h após a retirada do PRIMER. ²Percentuais (%) referentes ao número de vacas prenhas observadas. ³Valores absolutos= (vacas prenhas/total de vacas do tratamento). ³Teste χ^2 .

As taxas de prenhez obtidas não diferiram estatisticamente de forma similar às citadas em primíparas por Valentim et al. (2008), embora tenham sido superiores. Os protocolos com eCG e FSH-p utilizados por esses autores foram semelhantes aos TeCG e TFSH-48, embora eles tenham avaliado também a sincronização sem administração de hormônios com ação folículo estimulante (grupo controle). As taxas de prenhez citadas foram 47,4% (18/38) para o grupo controle, 43,5% (40/92) para o grupo eCG e 49,5% (46/93) para o grupo FSH-p. Portanto, em ambos os experimentos, os animais do tratamento com FSH-p comportaram-se de forma semelhante aos de eCG, mesmo tendo sido numericamente a taxa de prenhez das vacas do TFSH42 10% superior. Desta forma, pode ser observado que o estímulo gonadotrófico exógeno foi satisfatório na sincronização da ovulação.

Os resultados do presente experimento corroboram com a pesquisa de Santos et al. (2007a), que avaliaram a administração de eCG ou FSH-p na retirada do dispositivo de progesterona como indutores de crescimento folicular em vacas que não apresentavam corpo lúteo no dia 0. Os autores verificaram que foi possível utilizar FSH-p como indutor de crescimento folicular em programas de IATF em vacas zebuínas em anestro com a mesma eficácia que o eCG.

Na literatura científica há controvérsias sobre o emprego do hormônio eCG quanto ao estímulo gonadotrófico exógeno em protocolos de sincronização da ovulação. Alguns trabalhos indicam efeito positivo nas taxas de prenhez de vacas submetidas a protocolos com e sem administração de 400 UI de eCG na retirada do dispositivo de progesterona, como 55,1% (59/107) e 38,9% (42/108; Baruselli et al., 2003); 51,7% (155/300) e 33,8% (101/299; Silva et al., 2004); 50,9% (56/110) e 37,8% (37/198; Rodrigues et al., 2004); 55,6% (125/225) e 42,2% (98/232; Penteado et al., 2004), respectivamente, e outros demonstram que a eCG não aumenta a taxa de concepção à IATF em vacas, 61,8% (199/332) e 59,6% (192/332; Baruselli et al., 2003); 58,1% (172/296) e 61,9% (179/289; Marques et al., 2004).

As taxas de prenhez obtidas também foram superiores às relatadas por Pincinato et al. (2005), que avaliaram as taxas de prenhez em vacas lactantes com o uso (40,6%) ou não (44,2%) de 400 UI de eCG na retirada do dispositivo de progesterona em protocolo de IATF com BE administrado no dia 9. Avaliaram também o uso de protocolos com administração no dia 0 de 50 µg de acetato de gonadorelina e inserção do DIB, no dia 7 remoção do DIB e administração de 150 µg de cloprostenol, mais a administração ou não de 400 UI de eCG, no dia 9 foi administrado 50 µg de acetato de gonadorelina e a IATF realizada no mesmo momento. As taxas de prenhez com ou sem eCG foram 40,2 e 36,2%, respectivamente. Pode ser notado com relação às taxas de prenhez dos dois experimentos que a dose de 300 UI foi tão eficiente quanto a 400 UI e que a substituição de eCG por FSH-p também é possível sem alterar a taxa de prenhez.

De maneira geral, em vacas lactantes submetidas a programas de IATF, as taxas de prenhez têm oscilado entre 25 e 67% (Fike et al., 1997; Stevenson et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Geary et al., 2001; Baruselli et al., 2002; Martinez et al., 2002a,b; Baruselli et al., 2004; Nascimento, 2005; Kasimanickam et al., 2006; Borges et al. 2009), em função da porcentagem de animais em anestro no rebanho, com as condições ambientais e nutricionais e, também, com a associação hormonal utilizada. Desta maneira, o resultado dos protocolos utilizados foi satisfatório.

Murta & Andrade (2009), trabalhando com vacas, verificaram em protocolos utilizando 100 µg (G1) ou 200 µg (G2) que as taxas de prenhez das fêmeas inseminadas artificialmente foram, respectivamente, 26,6% e 20,9%, não apresentando diferenças estatísticas. Estes autores verificaram também que nas avaliações quanto a taxa de prenhez pelo repasse por touros, as taxas de prenhez foram 24,4% e 25,5%, respectivamente. Portanto, o uso de protocolos de IATF com o repasse com touros leva à redução nos custos dessa biotecnologia. Assim, pôde ser observado, nas vacas dos

tratamentos propostos, satisfatórias taxas de prenhez no repasse por touros que somada às taxa de prenhez na IATF, apresentaram eficiente taxa de prenhez acumulada (Tabela 5).

Na bovinocultura de corte, os principais fatores que afetam a eficiência reprodutiva no pós-parto são determinados pelo nível nutricional pré e pós-parto (Wiltbank et al., 1962), pela condição corporal ao parto (Selk et al., 1988), pela produção de leite e amamentação (Williams, 1990) entre outros fatores. O uso de estratégias de manejo, como mamada controlada, desmame precoce e estação de monta pode otimizar a eficiência reprodutiva (De Carvalho, 2001; Hernandez et al., 2001; Rocha e Ratti Júnior, 2005). Neste experimento, foi verificado que as terapias hormonais com eCG e FSH-p em vacas de corte no período pós-parto foi capaz de promover a manifestação de estro, a sincronização da ovulação e ativação da ciclicidade ovariana, abreviando o período de anestro, conforme proposto por Pratt et al. (1991). Assim, o uso dos protocolos hormonais para melhorar a eficiência reprodutiva em vacas de corte no pós-parto em início de estação de monta foi eficiente pela taxa de prenhez acumulada verificada na curta estação de monta de 70 dias.

Foi realizada a correlação de Spearman entre prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada e as variáveis peso corporal, condição corporal, período de serviço e a condição fisiológica de anestro nas vacas (Tabela 6). A condição corporal (CC) das vacas prenhas (média±erro-padrão) do TeCG, TFSH-48 e TFH42 foi 4,48±0,15; 5,19±0,15 e 5,00±0,15, respectivamente. Observou-se correlação positiva ($P<0,05$) da avaliação da condição corporal em escores no dia 0 com a prenhez na IATF (Tabela 5). Com esta correlação da condição corporal e a prenhez entre os tratamentos, os resultados corroboram com Moreira et al. (2000). Assim, a taxa de prenhez foi maior nas vacas com melhor condição corporal. As médias (média±desvio-padrão) do peso corporal (PC), do período pós-parto e da ordem de partos foram 430,24±64,14; 71,69±15,80 e 1,75±0,43; respectivamente, não apresentando correlação ($P>0,05$) com a prenhez.

Em mais pesquisas para verificar o efeito do uso ou não do eCG, verificou-se que em vacas em anestro, 52,2% (47/90) e 36,5% (27/74; Rodrigues et al., 2004), com folículos grandes, 50,0 (29/58) e 34,4% (22/64), ou com folículos pequenos, 56,5% (13/23) e 29,4% (5/17), houve efeito positivo do tratamento, enquanto que, nos animais cíclicos (com presença de CL), não se notou aumento na taxa de concepção à IATF, 64,0% (16/25) e 55,5% (15/27). O efeito positivo do eCG foi mais evidente à medida que aumentou a intensidade do anestro (Baruselli et al., 2008). Os resultados positivos

da utilização do eCG somente em animais em anestro também foram constatados em pesquisa realizada na Argentina (Cutaia et al., 2003) e estão também apresentados e discutidos em revisões científicas (Bo et al., 2003; Baruselli et al., 2004).

Tabela 6. Correlação de Spearman entre prenhez na IATF, no repasse por touros e acumulada e peso corporal (PC), escore de condição corporal (CC), período de serviço (PS), ordem de parto e a condição fisiológica de anestro nas vacas

| Prenhez | PC (kg) | CC (1-9) | PS (dias) | Ordem de parto | Anestro |
|-----------|--|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| IATF | 0,0474 ¹ (0,6185) ² | 0,1862 (0,0483) | 0,1414 (0,2022) | -0,0026 (0,9786) | 0,0834 (0,3798) |
| Touro | 0,1238 (0,4072) | 0,1303 (0,3827) | -0,2575 (0,1185) | -0,0882 (0,5556) | -0,1469 (0,3244) |
| Acumulada | 0,0896 (0,3453) | 0,1613 (0,0880) | -0,0568 (0,6101) | 0,0460 (0,6282) | -0,0356 (0,7080) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Conclusões

A dinâmica folicular não é influenciada durante a sincronização da ovulação utilizando protocolos com eCG e FSH-p.

A adição de eCG ou FSH-p em protocolos de sincronização não altera a taxa de prenhez na IATF, no repasse por touros e na acumulada.

Pode-se fazer a substituição da administração de eCG por FSH-p no dia 8. Além disso, pode-se sugerir ainda o uso de FSH-p para realizar inseminações com variações do intervalo da administração ao início da IATF de 42 a 48 h. Esta maior amplitude de variação no intervalo facilita o uso da estratégia IATF em programas de inseminação artificial para grandes rebanhos.

Literatura citada

- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP, 2008. 385p.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.26, n.3, p.218-221, 2002.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L. et al. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* durante o período pós-parto. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 5., 2003, Huerta Grande, Argentina. **Annales...** Huerta Grande: v.1, 2003, p.380, 2003.

- BARUSELLI, P.S.; REIS E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, n.1-4, p.479-486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J.O.; SALES, J.N.S. et al. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3º, 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: v.1, p.146-167, 2008.
- BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. et al. Follicular and hormonal response to experimental suppression of FSH during follicle deviation in cattle. **Theriogenology**, v.54, n.8, p.1191-206, 2000.
- BÓ, G.A.; ADAMNS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol 17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, n.3, p.307-326, 2003.
- BORGES, L.F.K.; FERREIRA, R.; SIQUEIRA, L.C. et al. Artificial insemination system without estrous observation in suckled beef cows. **Ciencia Rural**, v.39, n.2, p.496-501, 2009.
- CARNEIRO, G.F. Produção *in vivo* de embriões em pequenos ruminantes. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, suppl.2, p.s215-s222, 2008.
- COLAZO, M.G; GAVAGA, Q.A.; KASTELIK, J.P. et al. The effects of estradiol cypionate at CIDR removal and interval to fixed-time AI on pregnancy rates in beef cattle. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.215, 2003 (abstract).
- CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D. et al. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Theriogenology**, v.59, n.1, p.216, 2003.
- DE CARVALHO, L.F.M. Efeitos do desmame aos sessenta dias sobre a atividade reprodutiva pós-parto e o desenvolvimento ponderal dos bezerros em vacas de corte primíparas. 2001, 69p. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, UNESP, Botucatu, SP, 2001.
- DIAS, F.M.G.N. Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas. 1991, 100f., **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da UFMG: Belo Horizonte, 1991.
- FERNANDES, P.; TEIXERIA, A.B.; CROCCI, A.J. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist PGF_{2 α} and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.55, n.7, p.1521-1532, 2001.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, n.8, p.1489-1505, 1997.
- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K. et al. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrus when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, n.8, p.2009-2015, 1997.

- GARRETT, G.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, n.2, p. 437–446, 1988.
- GEARY, T.W.; WHITTIER, J.C.; HALLFORD, D.M. et al. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. **Journal of Animal Science**, v.79, n.1, p.1-4, 2001.
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; MATOS, S.P.M. et al. Dominant follicle by ultrasound guided transvaginal aspiration and superovulatory response in Nelore cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.1, p.53-58, 2000.
- HERNANDEZ, P.P.; REAL, C.S.D.; SÁNCHEZ, J.G. Anestro postparto y alternativas de manejo del amamantamiento en vacas de doble propósito en trópico. **Investigación Agricultura Producción Sanidad Animal**, v.16, n.2, p. 257-270, 2001.
- IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Development of non-ovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. **Endocrinology**, v.12, n.1, p.150–156, 1983.
- KASIMANICKAM, R.; COLLINS, J.C.; WUENSCHHELL, J. et al. Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal drug release removal and gonadotropin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. **Theriogenology**, v.66, n.2, p.166-172, 2006.
- KENNY, A.L.; PHILLIPS, N.J.; D'OCCHIO, M.J. Ovarian follicular response to repeat stimulation with FSH and oocyte recovery and quality in Brahman heifers treated with a GnRH agonist. In: J.L. Juengel and J.F. Murray and M.F. Smith, Reproduction in Domestic Ruminants VI. **7th International Ruminant Reproduction Symposium**, Wellington, New Zealand, p.456-456, 2006.
- MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in the cow. **Veterinary Journal**, v.171, n.3, p.500–503, 2006.
- MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: past, present and future. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: (s.n.), 2008. p.15-25, 2008.
- MARAÑA, D.; CUTAIA, L.; PERES, L. et al. Ovulation and pregnancy rates in postpartum *Bos indicus* cows treated with progesterone vaginal inserts and estradiol benzoate, with or without eCG and temporary weaning. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, n.1-2, p.116–117, 2006.
- MARQUES, M.O; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S. Taxa de concepção de vacas Nelore subentendas a protocolos com ou sem eCG com diferentes indutores de ovulação (BE, hCG e GnRH). Appud in: BARUSELLI, P.S.; BÓ, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 10., Londrina, 2004. **Anais...**, p.155-165, 2004.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v.57, n.3, p.1049-1059, 2002a.

- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. The use of a progesterone-releasing device (CIDR) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.80, n.7, p.1746-1751, 2002b.
- MOREIRA, F.; RISCO, C.; PIRES, M.F.A. et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. **Theriogenology**, v.53, n.6, p.1305-1319, 2000.
- MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, n.2, p.523-33, 1990.
- MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, v.12, n.1, p.27-44, 1991.
- MURTA, J.E.J.; ANDRADE, V.J.A. **Taxas de prenhez de vacas de corte inseminadas artificialmente a tempo fixo utilizando diferentes doses de análogo do GnRH.** Disponível em: <<http://www.echo.com.br/media/pdf/drjosemurta.pdf>> Acesso em: 31/08/2009.
- MUSSARD, M.L.; BURKE, C.R.; BEHLKE, E.J. et al. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.4, p.937-943, 2007.
- NASCIMENTO, V.A. **Avaliação de protocolos hormonais para Inseminação Artificial em Tempo Fixo em vacas lactantes da raça nelore.** 2005. 118f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.
- NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.2, p.99-105, 1999.
- PENTEADO, L.; AYRES, H.; MADUREIRA, E.H. et al. Efeito do eCG e do desmame temporário na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, suppl.1, p.223, 2004 (Abstract).
- PINCINATO, D.; PERES, L.C.; MARAÑA PEÑA, D. et al. Porcentaje de preñez en vacas con cria al pie tratadas con distintos protocolos de sincronización de la ovulación utilizando dispositivos con progesterona. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, VI, 2005, Córdoba. **Anais...** Córdoba: (s.n.), 2005.
- ROCHA, G.P.; RATTI JÚNIOR, J. **Estação de Monta: algumas considerações de importância.** 2005. 4p. Disponível em: <<http://www.beefpoint.com.br/?noticiaID=22219&actA=7&areaID=60&secaoID=181>>. Acesso em: 15/07/2009.
- RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; REIS, E.L. et al. Aumento da taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com uso de eCG em diferentes períodos pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, suppl.1, p.220, 2004.
- SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; VIEL JR., J.O. et al. Dinâmica folicular de vacas Nelore lactantes em anestro tratadas com progestágeno, eCG e GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (Suppl.1), p.235, 2004 (Abstract).
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: guide of personal computers. Version 9.0. Cary, 2001, 1v.

- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; VALENTIM, R. et al. Taxa de prenhez a IATF de vacas zebuínas em anestro tratadas com dose única de FSH-p (FOLLTROPIN[®]) **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.s1151, 2007a (Abstract).
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; BARUSELLI, P.S. et al. Estudo da dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando FOLLTROPIN[®] (FSHp) como indutor de crescimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.s1152, 2007b (Abstract).
- SELK, G.E.; WATTERMAN, R.P.; LUSBY, K.S. et al. Relationships among weight change in body condition and reproductive performance of rang beef cows. **Journal of Animal Science**, v.66, n.12, p.3153-3159, 1988.
- SILVA, R.C.P.; RODRIGUES, C.A.; MARQUES, M.O. et al. Efeito do eCG e do GnRH na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, suppl.1, p.221, 2004 (Abstract).
- STEVENSON, J.S.; THOMPSON, K.E.; FORBES, W.L. et al. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F_{2α} with or without timed insemination. **Journal of Animal Science**, v.78, n.7, p.1747-1758, 2000.
- VALENTIM, R.; MARQUES, M.O.; CREPALDI, G.A. et al. Efeito do tratamento com FSH na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona sobre a taxa de prenhez de primíparas Nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, suppl.2, p.s597, 2008.
- VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, n.6, p.1067–1078, 1999.
- XU, Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W. et al. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53, n.4, p.951–957, 1995.
- WILLIAMS, G.L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.831-852, 1990.
- WILTBANK, J.N.; ROWDEN, W.W.; INGALS, J.E. et al. Effect of energy level on reproduction phenomena of mature Hereford cows. **Journal of Animal Science**, v.21, n.2, p.219, 1962.
- YAVAS, Y., J.S.; WALTON. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, n.1, p.25-55, 2000.

HORMÔNIO COM AÇÃO FOLÍCULO ESTIMULANTE NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM VACAS LEITEIRAS DA RAÇA GIROLANDO

Resumo: Objetivou-se avaliar a dinâmica folicular e eficiência reprodutiva após o uso de hormônios estimulantes gonadotróficos (eCG e FSH-p) em protocolos de sincronização de ovulação em vacas da raça Girolando. No experimento I, verificou-se a dinâmica folicular, utilizando 30 vacas: TControle (n=10) – Dia 0, inserção de dispositivo de progesterona + 2 mg de benzoato de estradiol (BE); Dia 8, remoção do dispositivo + 112 mg de d-cloprostenol + 1 mg de BE; Dia 10, IATF realizada 44 h após a retirada do dispositivo; TeCG (n=10) – similar ao TControle, com administração no Dia 8 de 300 UI eCG; TFSH (n=10) – similar ao TControle, sendo que no Dia 8 administrou-se 15 mg de FSH-p. No experimento II, avaliou-se a eficiência reprodutiva das vacas em tratamentos similares: TControle (n=49), TeCG (n=50) e TFSH (n=50). Calculou-se a taxa de prenhez das vacas submetidas à re-inseminação que retornaram ao estro de 14 a 45 dias depois da IATF e a taxa de prenhez acumulada. Utilizou-se o programa SAS 9.0 a 5% de probabilidade. Não foi observado ($P>0,05$) efeito do tratamento e do dia na dinâmica folicular. O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi de 8,97; 7,59 e 9,38 mm para as vacas do TControle, TeCG e TFSH, respectivamente. O intervalo médio da retirada dos dispositivos e da IATF à ovulação foi de 49,2 e 5,5 h. No experimento II, não houve diferença ($P>0,05$) na taxa de prenhez por IATF, na re-inseminação e acumulada, respectivamente, para TControle (40,82; 56,25 e 59,18%), TeCG (26,00; 68,42 e 52,00%) e TFSH (38,00; 70,59 e 62,00%). Não foi observado efeito sobre a taxa de prenhez pela adição dos hormônios FSH-p e eCG em protocolo de sincronização da ovulação em vacas Girolando, porém a re-inseminação artificial no período de 14 a 45 dias pós-IATF aumentou a taxa de prenhez.

Palavras-chave: biotecnologia, eficiência reprodutiva, folículos, gado de leite, hormônio, manejo reprodutivo

Hormone with follicle stimulating action in ovulation synchronization of crossbred Holstein-Gyr cows

Abstract: The objective was to verify follicular dynamics and reproductive efficiency when using gonadotropic stimulating hormones (eCG and pFSH) in protocols of synchronization of ovulation in Girolando cows. In the experiment I, follicular dynamics was verified, using 30 cows: Tcontrol (n=10) – Day 0, insertion of progesterone device + 2mg benzoate of estradiol (BE); Day 8, devices removal + 112mg d-cloprostenol + 1mg BE; day 10, timed artificial insemination was performed 44 h after device removal; TeCG (n=10) – similar to the previous one, but using on day 8, 300 IU eCG; TFSH (n=10) – similar to Tcontrol, but using on Day 8, 15mg pFSH. In the experiment II, reproductive efficiency was evaluated in cows submitted to similar treatments to those of experiment I: Tcontrol (n=49), TeCG (n=50) and TFSH (n=50). Pregnancy rate after the first, second insemination (cows that showed estrus from 14 to 45 days after timed artificial insemination) and also the accumulated were calculated. Statistical analysis was performed using all tests for statistical significance at the 95% confidence interval (SAS[®] 9.0 program). There was no difference ($P>0.05$) of treatment effect and of the day of follicular dynamics. The average diameter of preovulatory follicle was 8.97, 7.59 and 9.38 mm for cows of TControl, TeCG and TFSH, respectively. The average intervals from devices removal and from TAI to ovulation were 49.2 and 5.5 h. In the experiment II, there was no difference ($P>0.05$) in

the pregnancy rate after the first, second insemination and the accumulated, respectively to Tcontrol (40.82; 56.25 e 59.18%), TeCG (26.00; 68.42 e 52.00%) e TFSH (38.00; 70.59 e 62.00%). It was not observed effect on the pregnancy rate when adding pFHS and eCG hormones to protocols of synchronization of ovulation in Girolando cows, but the second insemination performed from 14 to 45 days after the first one improved the pregnancy rate.

Keywords: biotechnology, dairy cattle, reproductive efficiency, follicle, reproductive handling, hormone

Introdução

No Brasil, a taxa de emprego da biotécnica inseminação artificial (IA) não ultrapassa 7% do rebanho nacional de 169 milhões de bovinos, sendo aproximadamente 69 milhões de vacas e fêmeas em idade de reprodução (Anualpec, 2008). O uso de estratégias com adaptações nos sistemas de criação (extensivo, semi-intensivo, intensivo) e a adoção de programas de sincronização de estro ou da ovulação, são cada vez mais importantes para elevar esse baixo índice, dada a importância da IA.

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) determinada pela sincronização da ovulação tem aumentado expressivamente no Brasil devido às facilidades de realização dos programas de IA a campo e das constantes pesquisas para a eficiência dos resultados. O emprego de associações hormonais como (progestágenos; prostaglandina-PGF_{2α}; gonadotrofina coriônica eqüina-eCG; hormônio folículo estimulante-FSH-p; benzoato de estradiol-BE; cipionato de estradiol-ECP) em protocolos de IATF induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controla a duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório e induz a ovulação.

Para visualização da sequência de eventos na dinâmica folicular e programação da sincronização da ovulação, os exames ultrassonográficos são importantes para o estabelecimento da IATF, obtendo-se determinar o momento ideal de inseminação. Assim, no âmbito da evolução das linhas de pesquisas na IATF é essencial para qualquer protocolo o acompanhamento da resposta na dinâmica folicular às administrações de hormônios para estabelecimento da prenhez e eficiência reprodutiva em rebanhos.

O uso do eCG em protocolos de sincronização de ovulação tem resultado em melhor viabilidade do oócito com maior taxa de prenhez (Baruselli et al., 2004). O eCG estimula o crescimento folicular, aumentando o tamanho (Sá Filho et al., 2004) e a capacidade esteroidogênica (Baruselli et al., 2004) do corpo lúteo (CL). Mas, a molécula de eCG é de alto peso molecular e induz a formação de anticorpos anti-eCG se usado em aplicações repetidas. Uma alternativa ao uso de eCG é a utilização do FSH-p por apresentar reação imunológica menor (baixo peso molecular) e por ter maior disponibilidade e aceitação em vários países.

Assim, objetivou-se avaliar a administração de hormônios com ação folículo estimulante, eCG e o FSH-p, em protocolos de sincronização de ovulação em vacas leiteiras da raça Girolando, quanto a dinâmica folicular e eficiência reprodutiva.

Material e Métodos

O estudo foi realizado em duas propriedades, situadas nos municípios de Viçosa (P1) e Bom Despacho (P2), ambos no estado de Minas Gerais, nas coordenadas geográficas de 20°45' Sul, 45°52' Oeste e 658 m de altitude e de 19°44' Sul, 45°15' Oeste e 769 m de altitude, respectivamente. Localizam-se em regiões com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos. Na P1, a temperatura média anual é de 21,8°C e a precipitação pluviométrica de 1.221 mm, e na P2, a temperatura média anual é de 22,5°C e a precipitação pluviométrica de 1.400 mm.

No experimento I, realizaram-se os exames da dinâmica folicular, utilizando 30 vacas da P1. No experimento II, avaliou-se a eficiência reprodutiva das vacas submetidas aos protocolos, utilizando 67 vacas da P1 e 82 vacas da P2. Todas as fêmeas apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica e de alterações do trato genital no exame ginecológico.

Na fazenda do município de Viçosa (P1), os animais foram mantidos em único lote em sistema semi-intensivo, composto por pastagens formadas por capim *Brachiaria decumbens*, silagem de milho e suplementadas com mistura mineral à vontade. Em Bom Despacho (P2), os animais também foram mantidos em único lote em sistema semi-intensivo, composto por pastagens formadas por capim *Brachiaria decumbens*, silagem de capim Cameroon (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Cameroon) e suplementadas com mistura mineral à vontade. As vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia.

No experimento I, as vacas foram distribuídas em três tratamentos: Tcontrole (n= 10) – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹² mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol¹³; dia 8 (D8), retirada do dispositivo e aplicação, IM, de 0,112 mg de PGF_{2α}¹⁴, mais 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10 (D10), a inseminação artificial (IA) foi realizada 44 h após a retirada do dispositivo; TeCG (n= 10) – similar ao Tcontrole, sendo no dia 8 administradas 300 UI eCG¹⁵; TFSH (n= 10) – similar ao Tcontrole, sendo no dia 8 administrados 15 mg de FSH-p¹⁶ (Figura 1).

As vacas foram distribuídas uniformemente nos tratamentos apresentando peso corporal de 436,53±91,76 kg e condição corporal de 2,43±0,41 (CC, escala de um a cinco; Edmonson et al., 1989), período pós-parto de 101,87±52,05 dias e produção de

¹²1,0 g de Progesterona, PRIMER[®], Tecnopec, Brasil.

¹³1 mg/mL Benzoato de estradiol, RIC BE[®], Syntex S.A., Argentina.

¹⁴0,75 mg/mL d-Cloprostenol, Prolise[®], ARSA S.R.L., Argentina.

¹⁵200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica Eqüina (eCG), Novormon[®], Syntex S.A., Argentina.

¹⁶20 mg/mL NIH-FSH-P1, Folltropin[®]-V, Bioniche Animal Health Canadá Inc., Canadá.

leite de $11,64 \pm 4,05$ kg/dia.

Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0, 4, 8, e no dia da IATF (dia 10), sendo neste dia feito acompanhamento da dinâmica folicular até a determinação da ovulação, pela ausência do folículo ovulatório, em intervalos de no máximo 12 h (manhã e tarde), com um aparelho portátil de ultrassom¹⁷ acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro: pequenos (FP < 6 mm), médios (FM de 6 a 8,0 mm) e dominantes (FD > 8,0 mm). Os corpos lúteos foram classificados de acordo com o tamanho da área em: < 1 cm², de 1 a 2 cm², de 2 a 3 cm², de 3 a 4 cm² e > 4 cm². Fez-se a taxa de ovulação das vacas a partir da ausência do folículo ovulatório, determinando também o tempo para ovulação, estimado pela soma dos intervalos das avaliações ultrassonográficas, sendo o último intervalo dividido por dois. Assim foram calculados os intervalos da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação. Na retirada do dispositivo de progesterona foi registrado o diâmetro do maior folículo, assim como o diâmetro do folículo pré-ovulatório no dia da IATF, sendo calculada a taxa de crescimento nesse intervalo de dois dias.

No experimento II, foram avaliados os mesmos tratamentos (protocolos de sincronização da ovulação) e empregou-se o mesmo delineamento do experimento I: TControle (P1= 24 vacas e P2= 25 vacas), TeCG (P1= 26 vacas e P2= 24 vacas) e TFSH (P1= 17 vacas e P2= 33 vacas). No início dos protocolos, obteve-se o peso e estimou-se a condição corporal das vacas (CC, escala de um a cinco; Edmonson et al., 1989), realizou-se a pesagem do leite e também foi calculado o período pós-parto até o dia da IATF para determinar o período de serviço referente ao uso dos protocolos de sincronização da ovulação. Os animais foram distribuídos uniformemente para essas características. As vacas (n= 149) apresentavam peso corporal de $452,21 \pm 5,81$ kg, condição corporal de $2,57 \pm 0,03$, período pós-parto de $138,30 \pm 8,67$ dias e produção de leite de $11,03 \pm 0,38$ kg/dia.

¹⁷Aloka®, modelo SSD500.

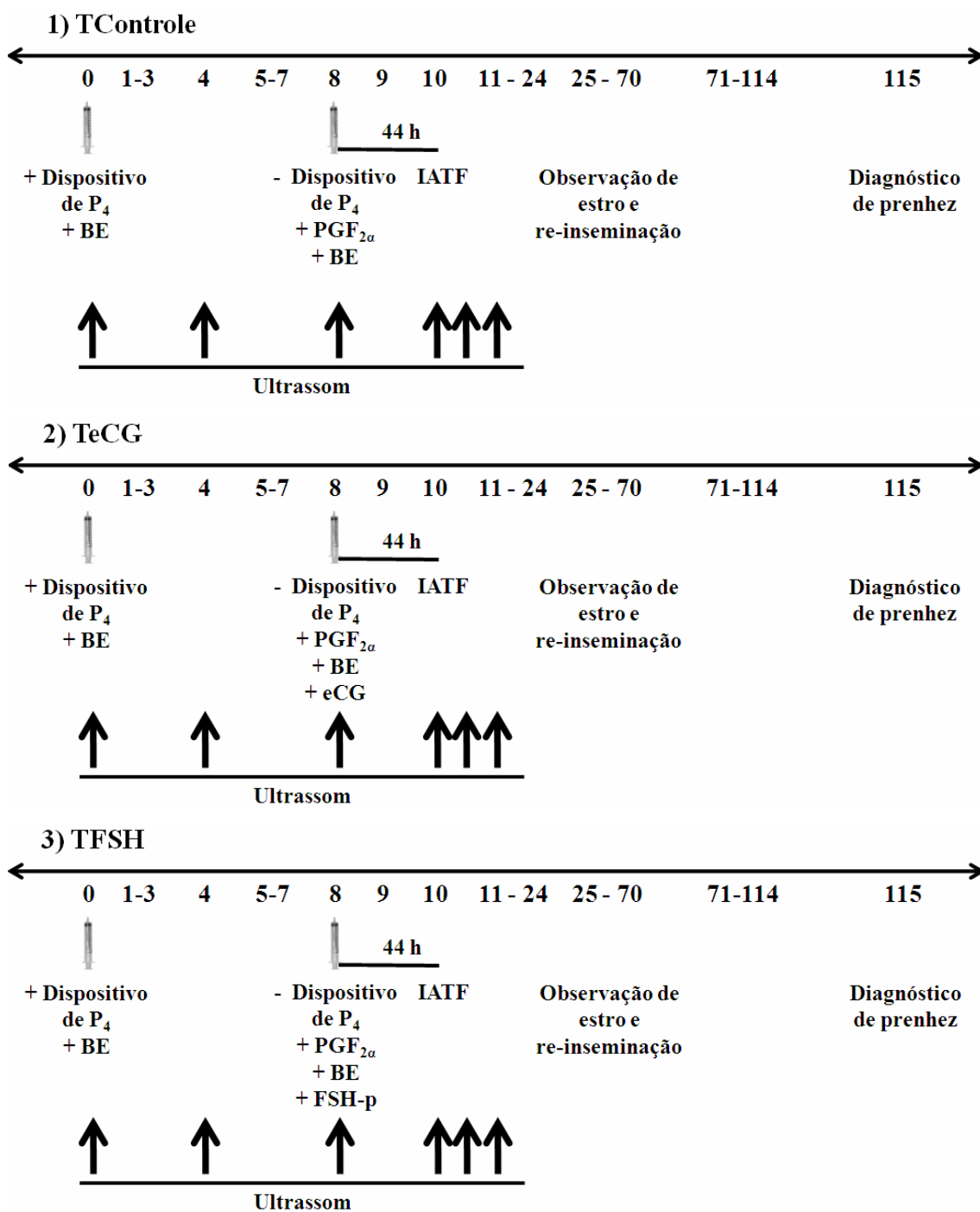


Figura 1. Esquema de aplicação dos tratamentos durante o período experimental.

Previamente à inserção do dispositivo, realizou-se o exame morfológico do sistema reprodutor feminino por palpação retal para verificar as condições de aptidão para reprodução e avaliou-se a presença de corpo lúteo e de folículos ovarianos com o aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz. Foram registrados o número total de folículos e o diâmetro dos folículos maiores que 7,5 mm e do segundo maior folículo. Também, foram registrados os corpos lúteos, sendo as vacas que não o apresentavam classificadas em anestro, correspondendo a cerca de 69,79%

(45/149) das vacas. Ressalta-se que os animais haviam sido rastreados visualmente pela observação de estro na ordenha da manhã (5h00), às 12h00 e na ordenha da tarde (16h00) nos últimos cinco dias.

Após 14 dias da realização da IATF, as vacas foram submetidas à observação de estro durante o período de 45 dias. O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após o final do período de observação (115 dias após a IATF) por palpação retal e calculadas as taxa de prenhez na IATF (vacas prenhes/total de vacas do tratamento), na re-inseminação artificial (vacas prenhes na re-inseminação artificial/total de vacas vazias do tratamento na IATF) e acumulada (soma das vacas prenhas na IATF e na re-seminação artificial/total de vacas do tratamento).

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen de touros da raça Girolando de Central de sêmen associada à ASBIA.

Para todas as análises estatísticas, utilizou-se o programa SAS 9.0 (2001) a 5% de probabilidade. O diâmetro do maior (dia 8 e 10) e do segundo maior (dia 10) folículo e taxa de crescimento folicular foram analisadas por análise de variância por delineamento inteiramente casualizado. A classificação folicular e a de corpo lúteo foram analisadas em parcela subdividida com efeito do tratamento na parcela e do dia de observação na subparcela em modelo misto considerando o efeito do animal e os erros aleatórios.

As taxas de prenhez (na IATF, na re-inseminação artificial e a acumulada) e taxas de primeiro serviço pós-IATF foram submetidas à análise logística considerando o efeito dos locais experimentais. A mesma análise foi realizada para taxa de ovulação, sem efeito de local somente com os dados das vacas utilizadas para a dinâmica folicular.

Foi realizada correlação de Spearman entre prenhez e diâmetro do maior e do segundo maior folículo e taxa de crescimento folicular das vacas utilizadas para a avaliação da dinâmica folicular. Também foi realizada correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada) e o peso corporal (PC), escore de condição corporal (CC), período pós-parto (PP) e condição fisiológica (anestro) das vacas no início do experimento I.

Resultados e Discussão

No experimento I, não houve interação ($P > 0,05$) entre o efeito do tratamento e do dia para classificação folicular (Tabela 1) e de corpo lúteo (Tabela 2). Embora todos os protocolos tenham sido similares até o dia 8, diferindo a partir deste pela adição dos

hormônios eCG e FSH-p, foi notada resposta homogênea ($P>0,05$) das vacas de todos tratamentos quanto ao número de folículos no período dos protocolos de IATF durante os 10 dias sob efeito dos tratamentos (Tabela 1). Também foi observado o efeito essencial do emprego de protocolos de IATF que corresponde à ovulação ou atresia dos folículos dominantes presentes no início dos protocolos, e o surgimento de nova onda folicular, da qual desenvolve o novo folículo ovulatório. No dia 4, apesar de não ter sido observada diferença estatística, observou-se numericamente maior concentração de folículos pequenos no dia 4, período em que há pouco efeito de dominância folicular e a resposta é satisfatória com o *pool* de folículos de nova onda folicular. Quanto ao efeito sobre os folículos dominantes no início da sincronização da ovulação (> 8 mm de diâmetro), foi observada a regressão ou atresia ($P<0,05$) destes em relação ao dia 4, com o desenvolvimento dos mesmos até o dia 8, fase com o aumento de dominância sobre os folículos subordinados, comprovada pela diminuição numérica dos folículos médios e pequenos no dia 10.

Analisando os protocolos utilizados, verifica-se que a associação de estrógenos agentes luteolíticos e progestágenos, é descrita desde aproximadamente 50 anos atrás (Wiltbank et al., 1965). Nos anos 90, estudos foram realizados com a utilização de progesterona e estrógeno para suprimir o desenvolvimento do folículo dominante e proporcionar a sincronização do desenvolvimento de nova onda folicular (Bó et al., 1994; Bó et al., 1995a, 1995b; Caccia & Bó, 1998). Uma evolução científica importante até então foi o efeito do estradiol como supressor do crescimento do folículo dominante. O efeito de induzir a regressão de folículos antrais é maior quando a administração do BE ocorre na presença de elevadas concentrações de progesterona, isto é, associado ao dispositivo de progesterona. O possível mecanismo desse efeito parece estar envolvido à supressão de FSH (Bó et al. 1994) e possivelmente de LH (Mapletoft et al., 2008). Portanto, utilização do estradiol ao início do protocolo de sincronização de estro consiste em suprimir o desenvolvimento folicular existente pelo aumento nas concentrações de estradiol plasmático que, por sua vez, ocasiona uma redução nas concentrações de FSH.

O tratamento com dispositivo de progesterona associado ao 17 β -estradiol ou BE, administrados em qualquer momento do ciclo estral, induzem o crescimento síncrono de nova onda folicular, aproximadamente quatro dias após (Bó et al., 1995b; Caccia & Bó, 1998). Com o dispositivo de progesterona, é mantida a concentração de progesterona plasmática a nível subluteal, inibindo o estro e a ovulação, pela ação no hipotálamo e na regulação da liberação de GnRH (Mihm e Austin, 2002).

Conseqüentemente, suprime a liberação endógena de LH, o crescimento e maturação dos folículos dominantes (Kinder et al., 1996). Contudo, não há supressão da secreção de FSH, originando novas foliculares (Savio et al., 1993). Daí, a observação do número de folículos pequenos no dia 4 representa uma avaliação importante, sendo a resposta satisfatória pelo *pool* de folículos da onda folicular.

Como os folículos crescem e passam pela fase de divergência folicular, há dependência decrescente de FSH e crescente de LH para o crescimento. Esta mudança na dependência das gonadotrofinas deve-se ao aumento na quantidade de expressão de mRNA e ao número de receptores de LH nas células da granulosa do folículo dominante (Ireland et al., 1983; Xu et al., 1995). No ciclo estral, baixas concentrações de FSH no momento da divergência são importantes na definição do folículo dominante, embora quanto maior a concentração de FSH, maior o crescimento do folículo ovulatório (Bergfelt et al., 2000). Devido a esse fator, utiliza-se o eCG ou o FSH-p no dia 8.

Tabela 1. Classificação folicular em função dos tratamentos e do dia de observação

| Item ¹ | Diâmetro folicular (mm) | | |
|-------------------|-------------------------|------------|-------------|
| | <6 | 6 a 8 | >8 |
| | Tratamento ² | | |
| TControle | 6,70±1,03a | 0,73±0,19a | 0,50±0,10a |
| TeCG | 6,75±1,03a | 0,65±0,19a | 0,30±0,10a |
| TFSH | 7,65±1,03a | 0,65±0,19a | 0,55±0,10a |
| | Dia ² | | |
| 0 | 6,87±0,76a | 0,90±0,21a | 0,53±0,09ab |
| 4 | 7,83±0,76a | 0,63±0,21a | 0,20±0,09c |
| 8 | 6,73±0,76a | 0,87±0,21a | 0,40±0,09bc |
| 10 | 6,70±0,76a | 0,30±0,21a | 0,67±0,09a |

¹TCont.= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE; D10, IATF 44 h após a retirada do PRIMER; TFSH= TControle + FSH-p no D8; TeCG= TControle + eCG no D8. ²Médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t (P<0,05).

Entre os tratamentos TControle, TeCG e TFSH e o momento da avaliação da presença de corpos lúteos de <1, de 1 a 2, de 2 a 3, de 3 a 4 e > 4 cm² não houve interação (P>0,05, Tabela 5). Pode ser notado, que houve desenvolvimento de corpos lúteos (P<0,05) < 1 cm² a partir da avaliação do dia 0 até a do dia 8, e que por ação da prostaglandina administrada, não foram observados no dia 10. A classe de corpos lúteos de 1 a 2 cm² regrediram após a avaliação do dia 8. Os corpos lúteos observados no dia 0 classificados acima de 2 cm² regrediram após a avaliação do dia 4. A quantidade de corpos lúteos registrados por classe foi pequena, indicando que havia alta taxa de vacas em anestro. Pelo efeito da associação dos hormônios e administração de

0,15 mg da prostaglandina d-cloprostenol no dia 8, não foi notado nenhum corpo lúteo no dia 10.

Tabela 2. Classificação do corpo lúteo, em função dos tratamentos e do dia de observação

| Item ¹ | Área do corpo lúteo (cm ²) | | | | |
|-------------------|--|-------------|------------|------------|------------|
| | < 1 | 1 a 2 | 2 a 3 | 3 a 4 | > 4 |
| | Tratamento ² | | | | |
| TControle | 0,15±0,05a | 0,13±0,06a | 0,03±0,04a | 0,03±0,01a | 0,03±0,03a |
| TeCG | 0,13±0,05a | 0,08±0,06a | 0,03±0,04a | 0,00a | 0,00a |
| TFSH | 0,10±0,05a | 0,13±0,05a | 0,08±0,04a | 0,00a | 0,08±0,03a |
| | Dia de observação ^{2,3} | | | | |
| 0 | 0,07±0,06ab | 0,17±0,06a | 0,10±0,04a | 0,03±0,02a | 0,07±0,03a |
| 4 | 0,23±0,06a | 0,20±0,06a | 0,07±0,04a | 0,00a | 0,07±0,03a |
| 8 | 0,20±0,06a | 0,07±0,06ab | 0,00a | 0,00a | 0,00a |
| 10 | 0,00b | 0,00b | 0,00a | 0,00a | 0,00a |

¹TCont.= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE; D10, IATF 44 h após a retirada do PRIMER; TFSH= TControle + FSH-p no D8; TeCG= TControle + eCG no D8. ²Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t (P<0,05).

Não houve diferença (P>0,05) quanto ao diâmetro do maior folículo no dia 8, no dia 10, à taxa de crescimento folicular entre os dias 8 e 10 do folículo ovulatório, ao segundo maior folículo no dia 10 e à taxa de ovulação para os tratamentos, embora todas essas características tenham sido observadas numericamente superiores nas vacas submetidas ao TFSH (Tabela 3). No dia 8, dia da retirada do dispositivo de progesterona e aplicação da PGF_{2α}, o diâmetro médio do folículo dominante foi de 8,68 ± 0,48 mm e no dia da IATF (dia 10) foi de 8,71 ± 0,49 mm. O desenvolvimento após 44 h, até a IATF, foi de 0,99 ± 0,14 mm/dia. Em todos os tratamentos foi verificada uniformidade quanto ao intervalo da retirada do dispositivo (TControle= 50 h; TeCG= 48 h; TFSH= 50 h) e da IATF (TControle= 6 h; TeCG=4 h; TFSH= 6 h) à ovulação. Observou-se também, que entre as vacas do TControle, TeCG e TFSH 30, 40 e 10% não desenvolveram folículos pré-ovulatórios (folículos > 8 mm) no dia da IATF. Esse índice pode estar ligado à interação entre os fatores lactação, condição coporal e nutrição pré e pós-parto de vacas de leite.

Tabela 3. Diâmetro do maior folículo no dia 8, do folículo pré-ovulatório e do segundo maior folículo no dia 10 (mm, médias±erro-padrão), taxa de crescimento folicular do dia 8 ao dia 10 (mm/dia) e taxa de ovulação das vacas utilizadas no experimento de dinâmica folicular, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | Dia 8 | Dia 10 | | Taxa de crescimento folicular (mm/dia) | Taxa de ovulação (%) |
|-------------------------|---------------------|------------------------------|-----------------------------|--|----------------------|
| | Maior folículo (mm) | Folículo pré-ovulatório (mm) | Segundo maior folículo (mm) | | |
| TControle | 8,87±0,86 | 8,97±0,84 | 4,60±0,35 | 0,88±0,23 | 85,71 (6/7) |
| TeCG | 8,58±0,93 | 7,55±0,84 | 4,50±0,35 | 0,81±0,28 | 83,33 (5/6) |
| TFSH | 8,60±0,76 | 9,60±0,84 | 5,41±0,35 | 1,19±0,22 | 88,89 (8/9) |
| Valor-P ² | 0,9649 | 0,2253 | 0,1566 | 0,4883 | 0,9521 ³ |

¹TCont.= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE; D10, IATF 44 h após a retirada do PRIMER; TFSH= TControle + FSH-p no D8; TeCG= TControle + eCG no D8. ²Teste F. ³Teste χ^2 .

O eCG trata-se de uma glicoproteína com subunidades α e β , similares ao LH e FSH, o que proporciona o desenvolvimento dos folículos ovarianos. Quanto ao efeito, por conter carboidratos, especialmente ácido siálico, apresenta longa meia-vida. Esses fatores estimulam as pesquisas da associação do eCG em protocolos de IATF (Baruselli et al., 2004). O tratamento com eCG (400 UI) no momento da retirada de progestágenos provoca um incremento no grau de sincronização, com redução significativa da variação do tempo para a ovulação e para o pico de LH (Cavaliere et al., 1997). No presente estudo foi verificada uniformidade nos curtos intervalos da ovulação após a IATF.

Embora não tenham sido notadas diferenças ($P>0,05$) nas vacas submetidas aos protocolos TControle, TeCG e TFSH, o maior diâmetro do folículo pré-ovulatório no dia 10 para as vacas do TFSH pode indicar eficiência na fecundação e manutenção da prenhez, devido a relação desta com o diâmetro do folículo ovulatório (Vasconcelos et al., 1999; Colazo et al., 2003; Mussard et al., 2007).

O hormônio eCG possui a capacidade de se ligar tanto aos receptores de FSH quanto de LH (Murphy e Martinuk, 1991) e apresenta meia-vida longa na circulação sanguínea. Contudo, a molécula de eCG é de alto peso molecular e induz a formação de anticorpos anti-eCG se usado em aplicações repetidas. O FSH-p é uma alternativa ao uso de eCG por apresentar reação imunológica menor e por ter maior disponibilidade e aceitação em vários países (Santos et al., 2007a).

O uso do FSH-p para indução e sincronização de estro e ovulação nas espécies ovina e caprina tem sido proposto como uma forma de substituição ao uso do eCG. A fonte de FSH é obtida por extrato purificado de hipófise suína, tendo atividade 84% FSH e 16% LH, relação ainda mais segura do que a proporção existente no eCG (75%

FSH e 25% LH). Ambos hormônios atuam sobre o estímulo e crescimento folicular permitindo um completo desenvolvimento dos folículos e a ovulação ao término do protocolo. A vantagem do FSH-p, ao contrário do uso do eCG, está na menor formação de anticorpos pós tratamento, importante para receptoras e para animais que recebem vários tratamentos ao longo de sua fase produtiva (Carneiro, 2008). Assim, justificam-se as pesquisas com o FSH-p em protocolos de sincronização de ovulação, a fim de minimizar os problemas decorrentes de reação imunogênica.

Em avaliação dos efeitos do uso de 400 UI de eCG na dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos taurus indicus*) comprovadamente em anestro e sincronizadas para IATF, Baruselli et al. (2008) relataram registros de que o tratamento na retirada do implante auricular de progestágeno aumentou o diâmetro do folículo pré-ovulatório (12,2 vs. 10,4 mm). Relacionando ao que foi observado no presente experimento, o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios foram inferiores, podendo ser a dose de 300 UI de eCG utilizada não apresentar o mesmo efeito. Assim, pode ser que para o efeito satisfatório do eCG ou do FSH-p em vacas leiteiras da raça Girolandoseja necessária a administração de doses maiores.

Em vacas de leite de alta produção tem sido observada maior taxa de ciclicidade, provavelmente devido a essa característica trabalhos realizados com eCG em vacas Holandesas em lactação não corresponderam a aumento na taxa de ovulação (Souza et al., 2006; Souza, 2008). No presente experimento com vacas da raça Girolando em produção média de leite e com baixa ciclicidade também não houve efeito aos estímulos exógenos gonadotróficos.

O tratamento com eCG na retirada do dispositivo de progesterona aumentou o diâmetro do folículo ovulatório em bovinos de corte em anestro (Sá Filho et al., 2004; Maranhã et al., 2006). Tal efeito não foi observado por Souza (2008) em vacas da raça Holandês, relatando que em protocolos de sincronização da ovulação com eCG e sem eCG, o diâmetro do folículo pré-ovulatório foi 14,2 e 13,7 mm, respectivamente. Gradela et al.(2000) relataram esses valores em vacas Nelore (11,80 a 13,60 mm), e Savio et al. (1988) e Murphy et al. (1990) em vacas *Bos taurus taurus* (15 a 18 mm). O diâmetro do folículo pré-ovulatório médio das vacas dos protocolos avaliados do presente estudo foram inferiores.

A taxa de crescimento folicular média encontrada foi superior às taxas encontradas por Santos et al. (2007b), trabalhando com vacas Nelore, submetidas a protocolos de IATF controle, com eCG, com 10 µg e 20 µg de FSH-p, que foram de 0,73; 0,76; 0,72 e 0,78 mm/dia, respectivamente.

Borges (2001) trabalhou com a sincronização estro de vacas Gir e observou que no dia da aplicação da PGF_{2α}, o diâmetro médio do folículo dominante foi de 7,3 ± 2,4 mm. Os folículos desenvolveram-se por cerca de 3,5 dias e atingiram o diâmetro pré-ovulatório de 13,0 ± 1,7 mm. Apesar das condições experimentais serem diferentes, pode ser observado que o diâmetro do folículo pré-ovulatório das vacas da raça Girolando neste experimento foram inferiores.

Gioso et al. (2006a) compararam a eficiência de doses distintas de acetato de fertirelina, análogo ao GnRH, para sincronização de onda folicular e indução da ovulação em vacas leiteiras. Foi verificado que não houve diferenças nos diâmetros foliculares entre as vacas submetidas aos tratamentos, com médias de 15,3±0,05 mm no dia 8 e 17,0±0,05 mm no dia 10. Os autores concluíram que a fertirelina foi capaz de promover um desenvolvimento folicular competente com formação de folículo pré-ovulatório bem como promover a ovulação. No presente experimento, com o uso do BE como indutor da ovulação e dos estimulantes gonadotróficos exógenos, o diâmetro dos folículos pré-ovulatórios das vacas da raça Girolando foram inferiores.

Não houve correlação (P<0,05) entre a prenhez e o diâmetro do maior folículo no dia 8, o diâmetro do folículo pré-ovulatório, do segundo maior folículo e a taxa de crescimento folicular (Tabela 4). Os maiores diâmetros dos folículos no dia 8, dos folículos pré-ovulatórios e a maior taxa de crescimento do dia 8 ao dia 10, não indicaram maior probabilidade de prenhez das vacas. Assim, estes resultados contradizem as proposições de Vasconcelos et al. (1999).

Tabela 4. Correlação de Spearman entre a taxa de prenhez na IATF e o diâmetro do maior folículo no dia 8, do folículo pré-ovulatório e do segundo maior folículo no dia 10 e taxa de crescimento folicular

| | Dia 8 | Dia 10 | | Taxa de crescimento folicular |
|---------|---------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------------|
| | Maior folículo (mm) | Folículo pré-ovulatório | Segundo maior folículo | |
| Prenhez | 0,0963 (0,6699) | 0,3514 (0,0569) | 0,0000 (1,0000) | -0,0437 (0,8550) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Não houve efeito (P>0,05) da adição dos hormônios eCG e FSH-p para as taxas de prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e na acumulada das vacas (Tabela 5). Embora, tenha sido observada certa tendência das vacas submetidas à adição de FSH-p e eCG no protocolo de sincronização de ovulação apresentarem maior taxa de prenhez na re-inseminação artificial e, conseqüentemente, incremento na taxa de prenhez acumulada. A taxa de prenhez acumulada variou de 59,19 a 62,00%, num período de 70

dias. Em rebanhos leiteiros esse índice é satisfatório em termos de eficiência reprodutiva e econômica. Com esses dados, pode ser notada a eficiência dos protocolos hormonais de sincronização da ovulação quanto a regularização do ciclo estral das vacas. Portanto, esse protocolo pode ser empregado como estratégia eficiente para sincronizar períodos de nascimento favoráveis, picos de lactação desejados e sincronizados das vacas. Além disso, proporciona o controle de forma ideal do período de serviço e seleção das vacas pela eficiência reprodutiva.

Tabela 5. Taxas de prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada das vacas, segundo os tratamentos

| Taxas de prenhez | Tratamento ¹ | | | Valor-P ² |
|---------------------------|--|------------------|------------------|----------------------|
| | TControle | TeCG | TFSH | |
| IATF | 40,82 ³ (20/49) ⁴ | 26,00 (13/50) | 38,00 (19/50) | 0,3001 |
| Re-inseminação artificial | 56,25 (9/16) | 68,42 (13/19) | 70,59 (12/17) | 0,6520 |
| Acumulada | 59,18 (29/49) | 52,00 (26/50) | 62,00 (31/50) | 0,6473 |

¹TCont.= D0, + PRIMER + BE; D8, - PRIMER + PGF_{2α} + BE; D10, IATF 44 h após a retirada do PRIMER; TFSH= TControle + FSH-p no D8; TeCG= TControle + eCG no D8. ²Teste χ^2 . ³Percentuais (%) referentes ao número de vacas prenhas. ⁴Valores absolutos= (vacas prenhas do tratamento ou da característica analisada/total de vacas do tratamento ou da característica).

Em rebanhos leiteiros, criados em condições tropicais, mantidos em pastagens mal manejadas, há alta incidência e maior período de anestro pós-parto, afetando negativamente o desempenho reprodutivo (Lucy et al., 2004; Cavalieri et al. 2006). A administração de 400 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona resulta no aumento da concentração de progesterona plasmática e nas taxas de prenhez em vacas lactantes no anestro pós-parto (Baruselli et al., 2004; Bó et al., 2007). Trabalhando com vacas da raça Holandês e mestiças Holandês x Jersey, Mian et al. (2007) também verificaram a eficiência de 400 UI de eCG no dia 8. Com o uso de dose menor de eCG (300 UI) no presente experimento ou de FSH, não foi observado a eficiência de estímulo gonadotrófico exógeno.

Souza et al. (2008) expuseram que mesmo com o uso de protocolos hormonais, as baixas taxas de concepção são um problema, principalmente em bovinos de leite de alta produção sob sistema confinado, nos quais as taxas de concepção anuais não ultrapassam 35% em quase todo o mundo. Os autores complementaram que há múltiplas causas para as baixas taxas de concepção em bovinos leiteiros, mas uma possível razão pode ser decorrente da baixa concentração de estradiol (E₂) circulante no pró-estro, pois os níveis de E₂ no pró-estro de vacas de alta produção são mais baixos

que animais não lactantes (Sartori et al., 2002a) e animais de baixa produção (Lopez et al., 2004), provavelmente devido à alta taxa de metabolismo hepático dos esteróides (Sangsritavong et al., 2002). As menores concentrações de E₂ no pró-estro podem estar causando diminuição na eficiência do transporte espermático pelo trato uterino (Hawk et al., 1975), menor taxa de fertilização dos oócitos (Sartori et al., 2002b) e menor qualidade embrionária (Ryan et al., 1993; Sartori et al., 2002b). O alto metabolismo hepático causa também diminuição das concentrações de progesterona no diestro. Nesse sentido, pode ser questionado se a dose de BE administrada no dia 8 nas vacas deste experimento não mascarou os efeitos da administração dos hormônios estimulantes gonadotróficos exógenos.

Quintela (2002) avaliou a eficiência da sincronização da ovulação de vacas Gir pela associação de norgestomet, valerato de estradiol e eCG para sincronizar a ovulação e realizar a IATF e não observou diferenças entre os tratamentos. O presente resultado foi similar aos relatados por Quintela (2002).

Gioso et al. (2006b) testando o acetato de fertirelina em protocolo Ovsynch, obtiveram taxa de prenhez em vacas leiteiras com produção média de 30 kg/dia variando de 20,00 a 43,75%. No uso da IATF em vacas da raça Holandês, Vasconcelos et al. (2007) obtiveram a taxa de prenhez de 25,2% e Souza (2008) obteve 31,5% com o uso e 29,9% sem eCG. Apesar dos protocolos serem diferentes, os resultados da taxa de prenhez do presente experimento foram similares aos encontrados na literatura.

Veneranda et al. (2006) verificaram incremento na taxa de prenhez com a administração de 400 UI eCG em protocolos de IATF com dispositivo de progesterona no dia 8 e BE no dia 9 (44,9%) de vacas da raça Holandês de alta produção em comparação ao protocolo Ovsynch modificado pela inserção de dispositivo de progesterona por sete dias e também administração de eCG no dia 7 (30,6%). O rebanho Girolando avaliado apresentava o período pós-parto médio de 128 dias, e produção média de 11 kg de leite, mas com alta porcentagem de vacas em anestro. As vacas submetidas aos protocolos controle e aos protocolos com a administração de eCG ou FSH-p não tiveram resposta tão eficiente quanto as vacas da raça Holandês relatado por Venerana et al. (2006), o que pode ser relacionado às doses de eCG ou FSH-p utilizadas no presente estudo (300 UI de eCG; 15 mg de FSH-p). Em outro estudo, Venerana et al. (2008) tornaram a verificar que vacas de alta produção de leite submetidas a protocolos com dispositivo de progesterona, BE e eCG obtiveram taxa de concepção (49,0%) tão boa ou superior às obtidas com protocolos à base de GnRH (39,0%).

Gradela et al. (2008) trabalharam com novilhas e vacas leiteiras da raça???. As fêmeas receberam no dia 0, o dispositivo intravaginal de liberação de progesterona (CIDR[®]) e uma injeção 1 mg de BE; no dia 7, PGF_{2α}; no dia 9, o CIDR[®] foi removido e o indutor da ovulação, o cipionato de estradiol (ECP) foi administrado simultaneamente. A taxa de estro foi de 62% (31/50) e a taxa de concepção total de 44% (22/50). Os autores concluíram que a administração de ECP no momento da retirada do CIDR favoreceu a ação da prostaglandina e aumentou a precisão da sincronização do estro e da ovulação, propiciando o aumento da taxa de prenhez e a redução do intervalo de parto de 15 para 12,5 meses, minimizando as diferenças na eficiência reprodutiva observadas com o aumento da produção leiteira. Com os tratamentos TControle e TFSH, o resultado da taxa de prenhez foi próximo ao obtido por Gradela et al. (2008). Com os protocolos testados, pode ser destacada a redução no número de vezes que as fêmeas são manejadas, diminuindo o estresse, para serem submetidas à IATF.

Foi realizada a correlação de Spearman entre prenhez na IATF, na re-insmeinação artificial e acumulada e as variáveis peso corporal, condição corporal, período de serviço, produção de leite e vacas em anestro (determinado pela ausência de corpo lúteo no exame ultrassonográfico; Tabela 6). O peso corporal médio das vacas prenhas (média±desvio-padrão) foi de 470,34±69,66 kg. Não houve correlação nas taxas de prenhez na IATF ou na re-insmeinação artificial, mas na acumulada houve, indicando que as vacas com maior peso corporal apresentaram maior eficiência.

As vacas não apresentaram correlação da condição corporal e prenhez ($P>0,05$). Esse resultado contrapõe à influência da condição corporal na fertilidade relatada por Moreira et al. (2000). O uso do eCG pode ter contribuído para essa avaliação, pois já há citações de que o eCG incrementa a taxa de prenhez em vacas de alta produção de leite e com baixa condição corporal (Bó et al., 2008). A CC deve ser acompanhada no pré-parto e pós-parto de vacas de leite, pois a grande mobilização das reservas corporais pode ampliar o intervalo do parto ao primeiro estro e à ovulação em vacas leiteiras de alta produção (Roche et al., 1992), o que parece acontecer também em mestiços. Assim, vacas perdendo menos de 0,5; de 0,5 a 1,0 e mais de 1,0 unidade de escore ovularam, em média, aos 30, 36 e 50 dias de pós-parto, respectivamente. Também, a taxa de concepção diminui 10% para cada 0,5 unidade de escore corporal que é perdida (Butler, 2005), comprometendo muito a fertilidade. Souza (2008) relatou que animais de baixa condição corporal ($< 2,75$) apresentaram menor volume e concentrações de P₄ circulantes nos dias 12 e 14 do ciclo estral, se comparado com animais de maior ($\geq 2,75$) condição corporal, afetando a taxa de prenhez.

Tabela 6. Correlação de Spearman entre prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada e as variáveis peso corporal (PC), condição corporal (CC), período pós-parto (PP) e produção de leite (PL) nas vacas no início do experimento

| Prenhez | PC(kg) | CC (1-9) | PP (dias) | PL (kg) |
|---------------------------|--|---------------------|---------------------|--------------------|
| IATF | 0,1220 ¹ (0,1384) ² | 0,0018 (0,9830) | -0,0935 (0,2806) | 0,1734 (0,0443) |
| Re-inseminação artificial | 0,1374 (0,3313) | -0,1206 (0,3944) | 0,1289 (0,3988) | 0,0545 (0,7224) |
| Acumulada | 0,2492 (0,0022) | 0,1164 (0,1574) | 0,0610 (0,4821) | 0,2175 (0,0113) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Para a eficiência reprodutiva em vacas de leite tanto na detecção natural de estro ou quando se usa a sincronização de ovulação, a nutrição pré e pós-parto são importantes fatores. Salmazo et al. (2006) relataram que a melhora no nível de suplementação, tanto no pré quanto no pós-parto, aumenta a quantidade de animais que manifestam estro e concebem nos primeiros 120 dias pós-parto, assim como na manutenção da gestação. Ocorre diminuição linear no tempo para início de atividade folicular e início de crescimento folicular à medida que se aumenta o nível de suplementação no pré e pós-parto, sendo que esses parâmetros estão correlacionados também com o escore corporal ao parto.

O período pós-parto médio das vacas prenhas foi de 130,86±82,39 dias, variando de 48,47 a 213,25 dias. De modo geral, foi um fator importante para protocolos de sincronização da ovulação utilizados, determinando a eficiência em qualquer período pós-parto considerando as diferenças fisiológicas das fêmeas. Carvalho et al. (2008) verificaram em vacas mestiças F1 Holandês x Zebu, por meio de exame ultrassonográfico, que as taxas de ovulação foram de 19,6, 60,7 e 80,4% aos 30, 60 e 90 dias pós-parto, respectivamente. Aos 90 dias pós-parto, 19,61% das vacas ainda não tinham ovulado, e não houve diferença no peso e escore de condição corporal ao parto ou na produção de leite entre as vacas que ovularam e as que não ovularam até 90 dias pós-parto. Lopez et al. (2005) verificaram 25% de vacas anovulatórias aos 71 dias pós-parto, independentemente da produção de leite.

Penteado et al. (2006) avaliaram a possibilidade de se obter satisfatórias taxas de concepção em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo no pós-parto precoce (40 a 60 dias). Os autores verificaram semelhantes taxas de concepção, independentemente do período pós-parto no qual foi realizada a IATF (50-60%), ressaltando que foi utilizado

eCG na retirada do implante. Desta forma, é possível realizar a IATF precocemente no período pós parto, associando o emprego da inseminação artificial como ferramenta de melhoramento genético com elevados índices de fertilidade nos rebanhos que empregam essa biotecnologia. Para o gado de leite é importante porque soma-se o benefício da produção de leite. O uso dos protocolos avaliados neste experimento pode ocorrer em vacas de leite com menor período pós-parto.

Em rebanho da raça Girolando participante do Programa de Monitoramento de Rebanhos Leiteiros (PMRL) desenvolvido pelo Instituto de Zootecnia na Estação Experimental de Zootecnia de Ribeirão Preto, SP, Brasil, no período de 1990 a 1999 (Freitas et al., 2002), foi relatado o intervalo do parto ao primeiro serviço e o intervalo do parto à concepção médias de 99 e 166 dias, respectivamente. Na análise foi notada redução gradativa nos valores destes intervalos ao longo do período de participação da fazenda no PMRL. Os autores observaram ainda aumento no número de serviços por concepção nos últimos anos, justificando que este fato poderia ser atribuído a um número maior de animais controlados, melhor identificação do estro fazendo com que, maior número de doses de sêmen fossem requeridas. As taxas de prenhez ao primeiro serviço e em todos os serviços observadas nos últimos anos da referida análise foram entre 40 e 30%. Esslemont (1991) cita que para se ter boa eficiência reprodutiva nos rebanhos, a taxa de prenhez deve ser da ordem de 55% e 45%, respectivamente. Assim, com base na semelhança das taxas de prenhez citadas às observadas neste estudo, poderia ser utilizado o programa de IATF para reduzir o intervalo de parto e o número de serviços por concepção.

Foi encontrada correlação ($P < 0,05$) entre a produção de leite das vacas registrada na inserção dos dispositivos de progesterona e a prenhez na IATF e na acumulada (Tabela 6). Isso demonstra que os protocolos foram eficientes nas vacas de maior produção de leite nos dias da sincronização da ovulação. Esse efeito atingido pode ser pela ação dos hormônios exógenos eCG ou FSH-p.

Nos últimos anos, em vacas de leite de alta produção tem sido notada a redução na fertilidade, com o aumento da produção de leite. Esse fator, está associado com o elevado percentual de animais apresentando patologias reprodutivas no puerpério, aumento do anestro pós-parto, estros pouco evidentes e de menor duração (Wiltbank et al., 2006). Assim, existe a necessidade de adequações no manejo e intervenções precoces e rotineiras para melhorar a eficiência reprodutiva. Em vacas da raça Girolando, deve-se ter atenção ao anestro pós-parto (Ferreira et al., 1992). Carvalho et al. (2008) sugeriram que o manejo reprodutivo deve ser baseado enfaticamente no

acompanhamento da condição corporal e sua variação no pós-parto, como indicador de nutrição adequada, para garantir o rápido retorno à ciclicidade dos animais. Com as melhores condições fisiológicas e nutricionais das fêmeas, associadas a protocolos de IATF, resultados satisfatórios são esperados.

Foi realizada a correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, na reinseminação e acumulada) e as variáveis relacionadas à dinâmica folicular do dia 0 (número total de folículos, diâmetros dos folículos maiores que 7,5 mm e segundo maior folículo e vacas em anestro, determinadas pela ausência de corpo lúteo no exame ultrassonográfico (Tabela 7).

Houve correlação positiva ($P < 0,05$) entre o número total de folículos e a taxa de prenhez acumulada. Assim, as vacas que apresentaram maior número de folículos no dia 0, apresentaram maior taxa de prenhez acumulada, ou seja, maior fertilidade.

Houve correlação entre as vacas em anestro, estimada pela ausência de corpo lúteo na inserção do dispositivo de progesteron, e a taxa de prenhez na IATF e na acumulada. Entre as vacas que não apresentaram CL no dia 0 determinadas em anestro, 34,62% (36/104 vacas) ficaram prenhas, já entre as cíclicas a taxa de prenhez foi de 35,55% (16/45 vacas). Assim, os dados corroboram com Baruselli et al. (2004) de que o uso destes protocolos de IATF ou semelhantes para sincronização da ovulação, destacando a ação do hormônio eCG e/ou FSH-p, é eficiente na taxa de prenhez mesmo em vacas em anestro na IATF ou na retomada da ciclicidade a curto prazo para fecundação.

Cardoso et al. (2006) trabalharam com vacas mestiças leiteiras mantidas a pasto, usando o protocolo: D0 – inserção de dispositivo intravaginal de P₄ associado à aplicação de cipionato de estradiol (2 mg); D7 - foi administrado PGF_{2α} (25 mg); D9 - o dispositivo foi retirado e foi aplicado cipionato de estradiol (1 mg) e a IATF realizada 48 h após a retirada do dispositivo. A concepção dos animais sem e com CL no dia 0 foi de 36,8% (70/190) e 34,4% (63/183), respectivamente. Os resultados encontrados no presente experimento foram similares aos observados por Cardoso et al. (2006). No presente estudo, a porcentagem de vacas em anestro e as taxas de prenhez foram, respectivamente para TControle 61,22% (33/49) e 42,42% (14/33); TeCG, 74,00% (37/50) e 24,32% (9/37); e TFSH, 32,00% (34/50) e 38,23% (13/34). Os resultados dos dois experimentos foram similares.

Tabela 7. Correlação de Spearman para prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada e o número total de folículos (NF), o diâmetro dos folículos maiores que 7,5 mm (FM > 7,5 mm), do segundo maior folículo (SF) e a condição fisiológica de anestro nas vacas no início do experimento

| Prenhez | NF | FM > 7,5 mm | SF | Anestro |
|---------------------------|--|---------------------|---------------------|--------------------|
| IATF | 0,1220 ¹ (0,1384) ² | 0,0018 (0,9830) | -0,0935 (0,2806) | 0,1734 (0,0443) |
| Re-inseminação artificial | 0,1374 (0,3313) | -0,1206 (0,3944) | 0,1289 (0,3988) | 0,0545 (0,7224) |
| Acumulada | 0,2492 (0,0022) | 0,1164 (0,1574) | 0,0610 (0,4821) | 0,2175 (0,0113) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Baruselli et al. (2003) trabalhando com vacas Nelore após o parto (75 ± 19 dias pós-parto), mantidas a pasto, verificaram efeito positivo do eCG conforme o grau de anestro. Em animais em anestro, sem a presença de CL e tanto com folículos grandes quanto pequenos, houve efeito positivo do tratamento com eCG, enquanto que, nos animais cíclicos, com presença de CL, não se notou aumento na taxa de concepção à IATF. Tem sido notado então que o efeito positivo do eCG é mais evidente conforme aumenta a intensidade do anestro (Cutaia et al., 2003). Com os resultados do presente experimento, não foi observado tal efeito para a administração do eCG. Embora, o mesmo tenha sido numericamente maior para as vacas do TFSH, o resultado foi semelhante ao das vacas do TControle.

Conclusões

A dinâmica folicular não é influenciada durante a sincronização da ovulação utilizando protocolos com eCG e FSH-p.

A adição de eCG ou FSH-p em protocolos de sincronização não altera a taxa de prenhez na IATF.

Em casos de rebanhos que tenham feito o uso repetido de eCG na sincronização da ovulação, pode ser sugerido utilizar FSH-p, para evitar reações imunogênicas.

Literatura citada

- ANUALPEC. **Anuário da Pecuária Brasileira**. São Paulo: FNP, 2008. 385p.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L. et al. Adequação da dose de FSH (Folltropin-v) em protocolos de superovulação de vacas nelore (*Bos taurus indicus*)

- com inseminação artificial em tempo fixo (SOTF). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, XVII, 2003, Fortaleza. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, suppl.1, p. 244-245, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, n.1-4, p.479-486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J.O.; SALES, J.N.S. et al. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3º, 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: v.1, p.146-167, 2008.
- BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. et al. Follicular and hormonal response to experimental suppression of FSH during follicle deviation in cattle. **Theriogenology**, v.54, n.8, p.1191-206, 2000.
- BÓ, G.A.; ADAMNS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol 17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Exogenous control of follicular development in cattle. **Theriogenology**, v.43, n.1, p.31-40, 1995a.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, n.3, p.193-204, 1995b.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.E.; SOUZA, A.H. et al. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3º, 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: v.1, p.95-110, 2008.
- BORGES, A.M. Influência de diferentes manejos e tratamentos hormonais na dinâmica ovariana durante o ciclo estral e no anestro pós-parto de vacas Gir e nelore. Viçosa, MG: UFV, 2001, 133 p., **Tese** (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.
- BUTLER, W.R. Nutrition, negative energy balance and fertility in the postpartum dairy cow. **Cattle Practitioner**, v.13, n.1, p.13-18, 2005.
- CACCIA M.; BÓ, G.A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, n.1, p.341, 1998.
- CARDOSO, B.L.; PESCARA, J.B.; VASCONCELOS, J.L.M. Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para vacas mestiças leiteiras. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl.1, p.s428, 2006.
- CARNEIRO, G.F. Produção *in vivo* de embriões em pequenos ruminantes. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, suppl.2, p.s215-s222, 2008.
- CARVALHO, B.C.; RUAS, J.R.M.; FERREIRA, J.J. Fisiologia reprodutiva de vacas mestiças leiteiras no pós-parto. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, 3, 2008, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: [s.n.], 2008. 13p.
- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E. et al. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.47, n.4, p.801-814, 1997.
- CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; FITZPATRICK, L.A. et al. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology**, v.65, n.1,

p.45-64, 2006.

- COLAZO, M.G; GAVAGA, Q.A.; KASTELIK, J.P. et al. The effects of estradiol cypionate at CIDR removal and interval to fixed-time AI on pregnancy rates in beef cattle. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.215, 2003 (abstract).
- CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D. et al. Effect of eCG treatment in postpartum beef cows synchronized with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and inseminated at a fixed-time. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.216, 2003 (abstract).
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- ESSELEMONT, R.J. 1991. **Fertility indices**. Farm Managent, Reading University Press, UK. p. 23-28.
- FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; VILLAÇA, H.A. Diagnóstico da situação produtiva e reprodutiva em rebanhos leiteiros da Zona da Mata, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.1, p.91-104, 1992.
- FREITAS, M.A.R.; GUILHERMINO, M.M.; SAMPAIO, I.B.M. et al. Avaliação do desempenho de um rebanho leiteiro comercial usuário de sistema informatizado. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**. v.10, n.1, p.30-34, 2002.
- GIOSO, M.M.; FERNANDES, C.A.C.; OBA, E. et al. Avaliação ultrassonográfica e dosagem de estradiol em vacas leiteiras submetidas ao protocolo Ovsynch utilizando acetato de fertirelina como análogo ao GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl.1, p.s398, 2006a.
- GIOSO, M.M.; FERNANDES, C.A.C.; OBA, E. et al. Eficiência do acetato de fertirelina na sincronização da onda folicular, ovulação e taxas de gestação em vacas leiteiras submetidas ao protocolo Ovsynch. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl.1, p.s399, 2006b.
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; MATOS, S.P.M. et al. Dominant follicle by ultrasound guided transvaginal aspiration and superovulatory response in Nellore cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.1, p.53-58, 2000.
- GRADELA, A.; DANIELI, T.; CARNEIRO, T. et al. Aumento da eficiência reprodutiva de novilhas e vacas leiteira cíclicas com o uso de cipionato de estradiol no momento da retirada do CIDR. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35., 2008, Gramado, RS. **Anais...** Gramado: Conbravet, p.1-6, 2008.
- HAWK, H.W.; COOPER, B.S. Improvement of sperm transport by the administration of estradiol to estrous ewes. **Journal of Animal Science**, v.41, p.1400-1406, 1975.
- IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Development of non-ovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. **Endocrinology**, v.12, n.1, p.150-156, 1983.
- KENNY, A.L.; PHILLIPS, N.J.; D'OCCHIO, M.J. Ovarian follicular response to repeat stimulation with FSH and oocyte recovery and quality in Brahman heifers treated with a GnRH agonist. In: J.L. Juengel and J.F. Murray and M.F. Smith, **Reproduction in Domestic Ruminants VI. 7th International Ruminant Reproduction Symposium**, Wellington, New Zealand, p.456-456, 2006.

- KINDER, J.E.; KOJIMA, F.N.; BERGFELD, E.G. et al. Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, n.6, p.1424-1440, 1996.
- LOPEZ, H.; SATTER, L.D.; WILTBANK, M.C. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.81, n.3-4, p.209-223, 2004.
- LOPEZ, H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M.C. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles. **Biology of Reproduction**, v.72, n.4, p.788-795, 2005.
- LUCY, M.C.; MCDUGALL, S.; NATION, D.P. The use of treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture based management systems. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, n.1-4, p.495-512, 2004.
- MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: past, present and future. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: (s.n.), 2008. p.15-25, 2008.
- MARAÑA, D.; CUTAIA, L.; PERES, L. et al. Ovulation and pregnancy rates in postpartum *Bos indicus* cows treated with progesterone vaginal inserts and estradiol benzoate, with or without eCG and temporary weaning. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, n.1-2, p.116-117, 2006.
- MIAN, L.; BROGLIATTI, G.M. Efecto de la aplicación de eCG en protocolos de IATF en vacas en lactancia. In: Simposio Internacional de Reproducción Animal, VII, IRAC-2007, Córdoba, Argentina. **Proceedings...** Córdoba: IRAC (s.n.), PP.243, 2007.
- MIHM, M.; AUSTIN, E.J. The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, n.2, p.155-166, 2002.
- MOREIRA, F.; RISCO, C.; PIRES, M.F.A. et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. **Theriogenology**, v.53, n.6, p.1305-1319, 2000.
- MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, v.12, n.1, p.27-44, 1991.
- MUSSARD, M.L.; BURKE, C.R.; BEHLKE, E.J. et al. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.4, p.937-943, 2007.
- PENTEADO, L.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P. et al. Taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo em diferentes períodos pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl.1, p.402, 2006.
- QUINTELA, A.T. Associação entre norgestomet valerato de estradiol e eCG para sincronizar a ovulação de vacas Gir e inseminar em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.1, supl.5, p.73-74, 2002.
- ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.28, n.1-4, p.371-378, 1992.

- RYAN, D.P.; PRICHARD, J.F.; KOPEL, E. et al. Comparing early embryo mortality in dairy cows during hot and cool seasons of the year. **Theriogenology**, v.39, n.3, p.719-737, 1993.
- SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; VIEL Jr., J.O. et al. Follicular dynamics in anestrous lactating Nelore treated with ear implant, eCG and GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, suppl.1, p.235, 2004.
- SALMAZO, R.; SANTOS, G.M.G.; MIZUBUTI, I.Y. et al. Efeito de diferentes níveis de suplementação sobre o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras mantidas a pasto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl.1, p.s331-, 2006.
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; VALENTIM, R. et al. Taxa de prenhez a IATF de vacas zebuínas em anestro tratadas com dose única de FSH-p (FOLLTROPIN[®]) **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.s1151, 2007a (Abstract).
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; BARUSELLI, P.S. et al. Estudo da dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando FOLLTROPIN[®] (FSHp) como indutor de crescimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.s1152, 2007b (Abstract).
- SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D.K.; SARTORI, R. et al. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.11, p.2831-2842, 2002.
- SARTORI, R.; ROSA, G.J.M.; WILTBANK, M.C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating cows and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.11, p.2813-2822, 2002a.
- SARTORI, R.; SARTOR-BERGFELT, R.; MERTENS, S. A. et al. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.11, p.2803-2812, 2002b.
- SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P. et al. Pattern of growth of dominant follicles during oestrus cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, n.2, p.663-671, 1988.
- SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R. et al. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.98, n.1, p.77-84, 1993.
- SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; TORRES JUNIOR, J.R.S. et al. Efeito do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. In: Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal, I, 2006, Pirassununga, SP. **Anais...** Pirassununga: Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal, v.1, 2006.
- SOUZA, A.H. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. São Paulo, 2008, 152 p. **Tese** (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, n.6, p.1067–1078, 1999.
- VASCONCELOS, J.L.M.; SANTOS, R.M.; CARDOSO, B.L. et al. Protocolo de sincronização de ovulação aumenta a concepção de vacas de leite. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, suppl.3, p.s1109, 2007.

- VENERANDA, G. ; FILIPPI, L. ; RACCA, D. et al. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time ai protocols. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, n.2, p.118, 2006.
- VENERANDA, G. ; FILIPPI, L. ; RACCA, D. et al. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and GnRH or estradiol benzoate and eCG. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, n.1, p.91, 2008.
- XU, Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W. et al. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53, n.4, p.951–957, 1995.
- WILTBANK, J.N.; ZIMMERMAN. D.R.; INGALLS, J.E. et al. Use of progestational compounds alone or in combinations with estrogen for synchronization os estrus. **Journal of Animal Science**, v.20. n.4, p.990-994, 1965.
- WILTBANK, M. ; LOPEZ, H. ; SARTORI, R. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.17-29, 2006.

BENZOATO DE ESTRADIOL NA SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO ASSOCIADO AO HORMÔNIO SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (bST-r) EM VACAS DA RAÇA GIROLANDO

Resumo: Objetivou-se avaliar a dinâmica folicular e a eficiência reprodutiva após a administração de benzoato de estradiol (BE) associado à somatotropina bovina recombinante (bST-r) em protocolos de sincronização da ovulação em vacas da raça Girolando. No experimento I, analisou-se a dinâmica folicular, utilizando 40 vacas em fatorial 2x2, constituído da administração ou não de bST-r e dois protocolos: o TBE8, com aplicação de BE nos dias 0 e 8, e a IA realizada 44 h após a retirada do dispositivo de progesterona; e o TBE9, similar ao anterior, com a segunda dose de BE no dia 9 e a IA realizada 48 h após a retirada do DIB. No experimento II, verificou-se a eficiência reprodutiva das vacas em delineamento e tratamentos similares (TbST, n=99; TControle, n=102; TBE8, n=100; TBE9, n=101). Calculou-se a taxa de prenhez das vacas submetidas à re-inseminação que retornaram ao estro de 14 a 45 dias depois da IATF e a taxa de prenhez acumulada. Utilizou-se o programa SAS[®] 9.0 a 5% de probabilidade. No experimento I, não foi observado ($P>0,05$) efeito da administração de bST-r e dos protocolos na dinâmica folicular. O diâmetro do folículo pré-ovulatório foi similar nas vacas do TControle (8,16 mm), TbST (9,51 mm), TBE8 (8,72 mm) e TBE9 (8,95 mm). O intervalo da retirada dos dispositivos e da IATF à ovulação foi 52,38 e 6,12 h. No experimento II, não houve diferença ($P>0,05$) na taxa de prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e na acumulada, respectivamente, para TControle (35,64; 72,22 e 63,37%), TbST (33,33; 64,29 e 60,61%), TBE8 (37,00; 64,29 e 64,00%); e TBE9 (32,0; 62,22 e 60,00%). A administração de bST-r e o intervalo de administração do BE à IATF não influenciaram a dinâmica folicular e o intervalo até a ovulação. As taxas de prenhez na IATF, na re-inseminação e a acumulada foram satisfatórias.

Palavras-chave: biotecnologia, eficiência reprodutiva, folículos, gado de leite, hormônio, progesterona

ESTRADIOL BENZOATE ON THE SYNCHRONIZATION OF OVULATION ASSOCIATED TO RECOMBINANT BOVINE SOMATOTROPIN (bST-r) HORMONE IN GIROLANDO COWS

Abstract: The objective was to evaluate follicular dynamics and reproductive efficiency with the use of estradiol benzoate (EB) associated to recombinant bovine somatotropin (bST -r) on the synchronization of ovulation protocols in Girolando cows. In the experiment I, follicular dynamics was performed using 40 cows in 2 x 2 factorial arrangement, with the administration or not of bST-r and two protocols: TEB8, with the use of EB on days 0 and 8, and TAI performed 44 h after progesterone devices removal; and TEB9, similar to the first one, but with the second dose of EB on day 9 and TAI performed 48 h after its removal. In the experiment II, cows reproductive efficiency in similar treatments (TbST, n= 99; TControl,n=102; TEB8, n=100; TEB9, n=101) were evaluated. Cows that returned to estrus (14 to 45 after TAI) were submitted to a second insemination and pregnancy rate was calculated and also the accumulated pregnancy rate. Statistical analysis was performed using all tests for statistical significance at the 95% confidence interval (SAS[®] 9.0 program). In the experiment I, it was not observed ($P>0.05$) bST-r or protocols effects on follicular dynamics. The average diameter of preovulatory follicle was 8.16; 9.51, 8.72 and 8.95 mm for cows of TControl, TbST, TEB8 e TEB9, respectively. The average intervals from devices removal and from TAI to ovulation were 52.38 and 6.12 hours. In the experiment II, there was no difference ($P>0.05$) for pregnancy rate after TAI (Tcontrol=56.25%; Tsupplementation=50.00%;

TEB8=54.90%; TEB9=51.02%), after natural mating (Tcontrol=38.09%; Tsupplementation=65.38%; TEB8=52.17%; TEB9=62.00%), or accumulated (Tcontrol=72.92%; Tsupplementation=80.77%; TEB8=78.43%; TEB9=75.51%). The bST-r administration and the interval from EB administration to TAI did not influence follicular dynamics and the interval to ovulation. Also, pregnancy rate after first TAI, second TAI and accumulated were satisfactory.

Keywords: biotechnology, dairy cattle, follicle, hormone, progesterone, reproductive efficiency

Introdução

A condição econômica mundial impõe a necessidade de práticas de manejo eficazes para melhorar a rentabilidade de propriedades envolvidas com produção de leite. No Brasil, há contrastes quanto à pecuária leiteira. Ao mesmo tempo em que há propriedades consideradas modelo, com alta produtividade e elevada eficiência reprodutiva, e propriedades que não possuem sequer escrituração zootécnica adequada, refletindo em índices de eficiência produtiva extremamente baixos.

A reprodução é o principal fator que afeta a eficiência de sistemas de produção de leite. O intervalo de partos ideal é de 365 dias, e à medida que este se eleva, há um aumento direto do número de animais improdutivos na fazenda, diminuindo a produção de leite, o número de crias e novilhas disponíveis para a reposição. Conseqüentemente, é diminuída a eficiência dos programas de seleção, afetando o descarte e venda de matrizes (Ruas et al., 2005).

Vários fatores influenciam a reprodução nas fêmeas, como o manejo, nutrição, genética, patologias e fisiologia reprodutiva e o metabolismo (Santos, 2008). Assim, justifica-se a necessidade de adoção de programas reprodutivos eficazes.

O hormônio somatotropina recombinante bovina (bST-r) é utilizado em vacas leiteiras para aumentar a produção, porém os efeitos deste sobre a reprodução ainda carecem de estudos. O bST-r administrado no segundo mês pós-parto, não influenciou a atividade ovariana de vacas da raça Holandês Preta e Branca, mas aumentou a produção leiteira diária em 3,5%. A administração do bST-r não alterou a dinâmica folicular, o comprimento do ciclo estral, o diâmetro dos ovários, o número de ondas foliculares, o número e o diâmetro dos folículos recrutados (Aleixo et al., 2005). Entretanto, há avaliações do bST-r como estratégia para aumento da população de folículos antrais recrutados, melhorando a resposta superovulatória na transferência de embriões. Em estudos *in vivo* em raças bovinas européias de corte foi relatado aumento da população de folículos antrais com diâmetro entre 2 e 5 mm (Gong et al., 1996).

No emprego da biotécnica de inseminação artificial (IA) em fêmeas da raça Girolando, pode-se utilizar a sincronização da ovulação e IA em tempo fixo (IATF), eliminando a necessidade de detecção de estro. Assim, objetivou-se avaliar o momento de administração do benzoato de estradiol e a administração de bST-r em protocolos de sincronização de ovulação em vacas leiteiras da raça Girolando quanto à dinâmica folicular e eficiência reprodutiva.

Material e Métodos

O estudo foi realizado em três propriedades, uma situada (P1) no município de Dolores do Rio Preto, estado do Espírito Santo, e duas situadas (P2 e P3) no município de Bom Despacho, estado de Minas Gerais. A P1 localiza-se nas coordenadas geográficas de 20°41' Sul, 41°50' Oeste e 774 m de altitude e as propriedades P2 e P3 nas coordenadas geográficas de 19°44' Sul, 45°15' Oeste e 769 m de altitude, respectivamente. A propriedade P1 está em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, clima Tropical de Altitude, com temperatura média anual de 19,2°C e precipitação pluviométrica de 1.000 mm anuais. As propriedades P2 e P3 estão em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, com temperatura média anual de 22,5°C e precipitação pluviométrica de 1.400 mm.

Foram realizados dois experimentos para avaliar a eficiência reprodutiva das fêmeas com o uso de diferentes protocolos. No experimento I, foram realizados exames de dinâmica folicular com os animais da P1 e, no experimento II, com os animais da P2 e da P3. Os animais experimentais apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica e de alterações do trato genital ao exame ginecológico.

À inserção do dispositivo, obteve-se o peso corporal das vacas (PV, kg) e determinou-se a condição corporal (CC, escala de um a cinco), de acordo com a escala proposta por Edmonson et al. (1989). Também, registrou-se o período pós-parto relativo ao dia da IATF (dia 10) e a pesagem da produção de leite (kg/dia) das vacas submetidas a duas ordenhas.

Na propriedade P1, o manejo das vacas era em sistema extensivo, sendo a pastagem formada principalmente de braquiarião (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu). As vacas recebiam sal mineral e água à vontade. As vacas das propriedades P2 e P3 eram mantidas em sistema semi-intensivo em pasto de *Brachiaria decumbens*, suplementadas com silagem de capim Cameroon (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. Cameroon) e silagem de milho, respectivamente. As vacas de ambas as propriedades eram ordenhadas duas vezes ao dia.

Os dois experimentos foram realizados em esquema fatorial 2 x 2 (hormônio somatotropina bovina recombinante - bST-r - e protocolos de sincronização).

No experimento I, foram utilizadas 40 vacas lactantes da raça Girolando, consistindo da administração (TbST= 20 vacas) ou não (TControle= 20 vacas) de 500

mg bST-r¹⁸, no 4º dia (Dia 4) após início dos protocolos de sincronização da ovulação, e dois protocolos de sincronização de ovulação: TBE8 (n= 20 vacas) – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹⁹ mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol²⁰; dia 8 (Dia 8), retirada do dispositivo e aplicação de 400 UI de eCG²¹, 0,53 mg de PGF_{2α}²² e 1 mg de benzoato de estradiol, IM; dia 10 (Dia 10). A inseminação artificial (IA) foi realizada 44 horas após a retirada do dispositivo; TBE9 (n=20 vacas) – similar ao tratamento anterior, com segunda dose de BE administrada 24 horas após a retirada do dispositivo (Dia 9) e a IA realizada 48 horas depois da retirada do mesmo (Figura 1).

Os exames ultrassonográficos foram realizados com o auxílio de um aparelho portátil de ultrassom²³, acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz, nos dias 0, 4, 8, 10 e, a partir do dia 10 (dia da IATF), o acompanhamento da dinâmica folicular foi até a determinação da ovulação, caracterizada pela ausência do folículo ovulatório, em intervalos de 12 horas, de manhã e à tarde (Dia 10 + 12 h; Dia 10 + 24 h; ou mais avaliações, quando necessárias). A partir da ausência do folículo ovulatório, estimou-se o tempo para ovulação após a IATF, pela soma dos intervalos das avaliações, sendo o último intervalo dividido por dois. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro: pequenos (FP; < 6 mm), médios (FM; 6 a 8,0 mm) e dominantes (FD; > 8,0 mm). Os corpos lúteos foram classificados de acordo com o tamanho da área em: < 1 cm², de 1 a 2 cm², de 2 a 3 cm², de 3 a 4 cm² e > 4 cm².

¹⁸250 mg/mL Somatotropina bovina recombinante, Boostin[®] 500 MG, Coopers, Brasil.

¹⁹1,0 g de Progesterona, Dispositivo Intravaginal Bovino[®], Schering-Plough, Brasil.

²⁰1 mg/mL Benzoato de estradiol, Gonadiol[®], Schering-Plough, Brasil.

²¹200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica equina (eCG), Novormon 5000[®], Syntex S.A. – Argentina.

²²0,265 mg/mL Cloprostenol Sódico, Ciosin[®], Coopers, Brasil.

²³Aloka[®], modelo SSD500.

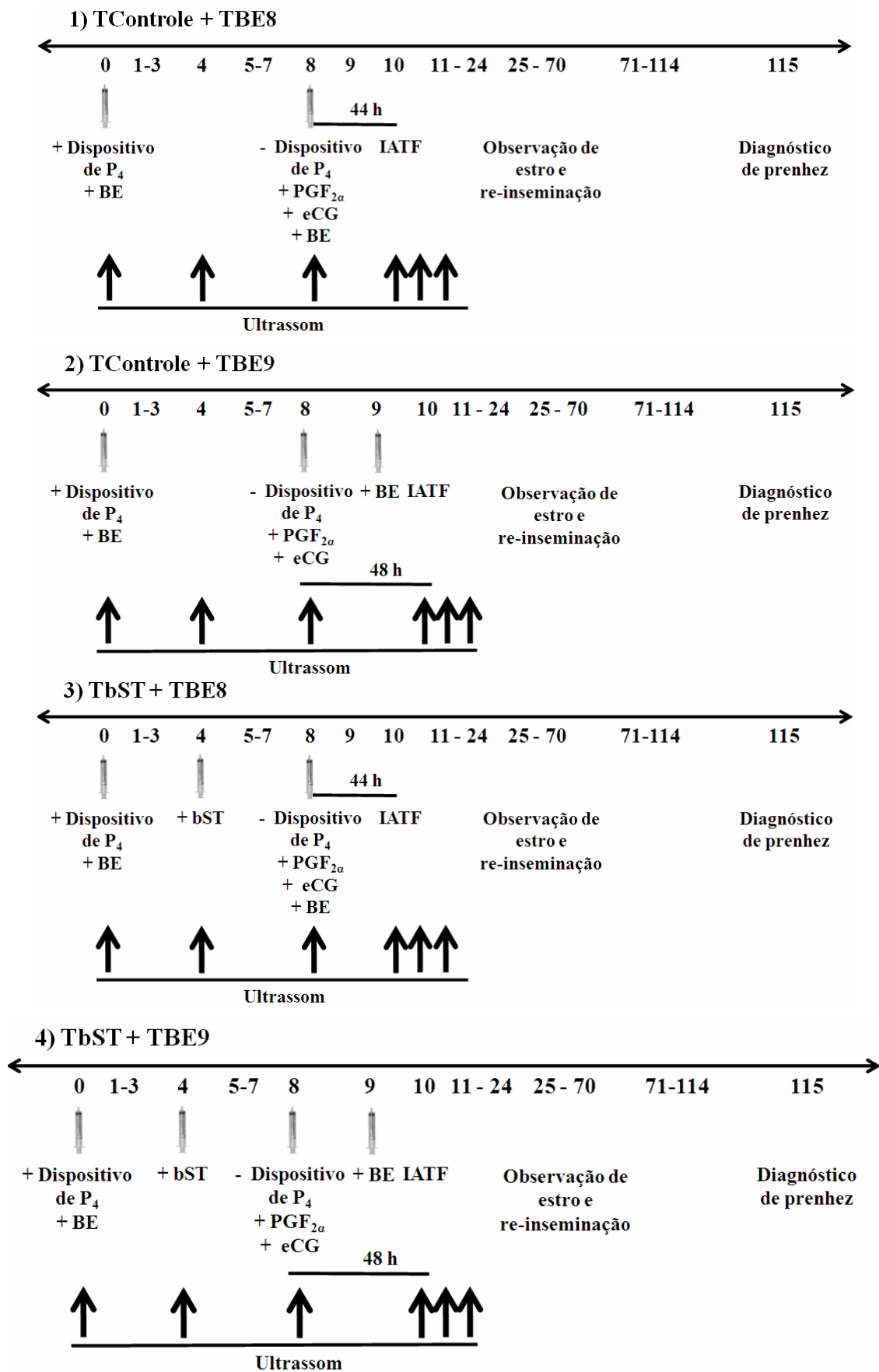


Figura 1. Esquema de aplicação dos tratamentos durante o período experimental.

No experimento II, os tratamentos avaliados foram iguais ao do primeiro experimento. Entretanto, foi considerado o efeito da propriedade (P2 e P3). Desta forma, foi avaliada a eficiência reprodutiva das fêmeas com o uso dos protocolos, em esquema fatorial 2 x 2: administração, TbST (P2= 18 vacas, P3= 81 vacas), ou não, TControle (P2= 18 vacas, P3= 84 vacas) de bST-r, e protocolos de sincronização, TBE8 (P2= 18 vacas, P3= 82 vacas) e TBE9 (P2= 18 vacas, P3= 83 vacas). No início dos protocolos, obteve-se o peso, estimou-se a condição corporal das vacas, realizou-se a pesagem do leite, e calculou-se, ainda, o período compreendido do parto até o dia da IATF, a fim de se determinar o período de serviço referente ao uso dos protocolos de sincronização da ovulação. Os animais foram distribuídos uniformemente para essas características. As vacas (n= 201 vacas) apresentaram (média±erro-padrão) peso corporal de 467,42±3,98 kg, condição corporal de 2,42±0,02, período pós-parto de 128,49±5,62 dias e produção de leite de 11,09±0,36 kg.

Previamente à inserção do dispositivo, realizou-se o exame morfológico do sistema reprodutor feminino por palpação retal para verificar as condições de aptidão para reprodução e avaliou-se a presença de corpo lúteo e de folículos ovarianos com o aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz. Foram registrados o número total de folículos e o diâmetro do folículo dominante > 7,5 mm e do segundo maior folículo. Também, foram registrados os corpos lúteos, sendo as vacas que não o apresentaram classificadas em anestro, correspondendo a cerca de 76,62% das vacas. Ressalta-se que os animais haviam sido rastreados visualmente para observação de estro na ordenha da manhã (5h00), às 12h00 e na ordenha da tarde (16h00) nos últimos cinco dias.

Após 14 dias da realização da IATF, as vacas foram submetidas à observação da manifestação de estro para nova inseminação artificial (re-inseminação), durante o período estimado correspondente a dois ciclos estrais (45 dias). O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após o final do período de observação (115 dias após a IATF), por palpação retal, e calculadas as taxa de prenhez na IATF (vacas prenhes/total de vacas do tratamento), na re-inseminação (vacas prenhes re-inseminadas/total de vacas vazias do tratamento na IATF) e acumulada (vacas prenhes na IATF e na re-inseminação/total de vacas do tratamento).

As inseminações artificiais na IATF foram realizadas por um técnico e, na re-inseminação, por outros dois capacitados, utilizando sêmen de touros da raça Girolando, oriundos de centrais de sêmen associadas à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

Para todas as análises estatísticas, utilizou-se o programa SAS[®] 9.0 (2001) a 5% de probabilidade. Os dados foram analisados em fatorial 2 x 2 (administração ou não de bST-r e de BE no dia 8 ou 9).

Os intervalos da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF (IATFOV) à ovulação, o diâmetro do maior e do segundo maior folículo e a taxa de crescimento folicular foram analisados por análise de variância, em delineamento inteiramente casualizado.

A classificação folicular e a de corpo lúteo foram analisadas em parcela subdividida, com efeito do dia de administração de BE na parcela, a administração de bST-r na subparcela e o momento de observação na subsubparcela, em modelo misto considerando o efeito do animal e o erros aleatórios.

As taxas de ovulação, prenhez pela IATF, pela re-inseminação artificial e na acumulada foram submetidas à análise logística.

Foi realizada correlação de Spearman entre prenhez e diâmetro do maior e do segundo maior folículo e taxa de crescimento folicular das vacas utilizadas para a avaliação da dinâmica folicular. Também foi realizada correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, na re-inseminação e acumulada) e peso corporal (PC), escore de condição corporal (CC), período pós-parto (PP), produção leiteira (PL) e condição fisiológica (anestro) das vacas no início do experimento II.

Resultados e Discussão

No experimento I, não houve interação ($P > 0,05$) entre efeito da administração de somatotropina recombinante (bST-r), dia de administração de BE e dias da avaliação do diâmetro dos folículos, classificados pelo diâmetro em < 6 , de 6 a 8 e > 8 mm, nas vacas leiteiras da raça Girolando (Tabela 1). As vacas do TControle e TbST apresentaram média similar das classes de folículos avaliadas, assim como as submetidas aos tratamentos TBE8 e TBE9 ($P > 0,05$). O importante a ser destacado é o efeito conjunto dos hormônios para a sincronização da ovulação, observado pela redução ($P < 0,05$) do número de folículos médios de 6 a 8 mm e de folículos > 8 mm, no dia 4. O período inicial do protocolo de sincronização foi caracterizado pela emergência de novas ondas foliculares. No dia 8, já foi observado maior desenvolvimento dos folículos, com aumento ($P < 0,05$) dos mesmos na classe de 6 a 8 mm e também dos folículos > 8 mm. No dia 10, com o efeito de dominância dos folículos ovulatórios, observou-se menor ($P < 0,05$) média de folículos da classe de 6 a 8 mm. Era esperada melhor resposta quanto

à média de folículos > 8 mm ou ovulatórios, no dia 10, a qual correspondeu a 0,75 folículos/vaca.

Tabela 1. Classificação de folículos < 6, de 6 a 8 e > 8 mm, em função da administração de bST-r, do dia de administração de BE e do momento de avaliação

| Item ¹ | Diâmetro folicular (mm) ² | | |
|----------------------------|--------------------------------------|------------|-------------|
| | < 6 | 6 a 8 | >8 |
| Administração de bST | | | |
| TControle | 11,91±0,97a | 0,61±0,09a | 0,48±0,09a |
| TbST | 11,24±0,99a | 0,59±0,10a | 0,61±0,09a |
| Dia de administração de BE | | | |
| TBE8 | 11,47±1,03a | 0,63±0,10a | 0,56±0,10a |
| TBE9 | 11,69±0,93a | 0,57±0,09a | 0,53±0,09a |
| Momento de avaliação | | | |
| Dia 0 | 11,02±0,93a | 0,98±0,12a | 0,59±0,12ab |
| Dia 4 | 10,66±0,93a | 0,30±0,12b | 0,28±0,12b |
| Dia 8 | 12,88±0,93a | 0,83±0,12a | 0,56±0,12ab |
| Dia 10 | 11,75±0,93a | 0,30±0,12b | 0,75±0,12a |

¹TControle= sem administração de bST. TbST= administração de 500 mg de bST no dia 4. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 44 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB.

²Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t (P<0,05).

Em estudos realizados com a utilização de progesterona e estrógeno para suprimir o desenvolvimento do folículo dominante e proporcionar a sincronização do desenvolvimento de nova onda folicular (Bó et al., 1994; Bó et al., 1995a, 1995b; Caccia & Bó, 1998), destacou-se o efeito do estradiol, estabelecido como supressor do crescimento do folículo dominante. Relatou-se, ainda, que este efeito é maior quando o BE é administrado associado ao dispositivo de progesterona, pela elevada concentração de progesterona atingida. O possível mecanismo do efeito supressor está envolvido à redução da concentração de hormônio folículo estimulante (FSH; Bó et al. 1994) e, possivelmente, de hormônio luteinizante (LH; Mapletoft et al., 2008). Portanto, utilização do estradiol ao início do protocolo de sincronização de estro ou ovulação consiste em suprimir o desenvolvimento folicular existente pelo aumento da concentração de estradiol plasmático, que, por sua vez, ocasiona redução da concentração de FSH. Assim, o tratamento com dispositivo de progesterona, associado ao BE, administrados em qualquer momento do ciclo estral, induzem o crescimento síncrono de nova onda folicular, aproximadamente quatro dias após (Bó et al., 1995b; Caccia & Bó, 1998).

As somatomedinas, principalmente o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I), produzidas pelos hepatócitos, medeiam a ação da somatotropina (Armstrong et

al., 1995; Chalupa et al., 1997), de forma direta e indireta, por: acentuar o crescimento do corpo lúteo e a secreção de progesterona (P_4) durante a fase luteínica do ciclo estral (Collier & Vinici, 1996); aumentar a concentração periférica de IGF-I; aumentar a população dos folículos antrais pequenos (Pavlok et al., 1996); estimular a maturação de oócitos (Izadyar et al., 2000); favorecer o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária; e, estimular a atividade secretória das glândulas endometriais (Thatcher et al., 2001). Neste estudo, não foi observada ação do bST-r quanto ao efeito de aumento de folículos antrais.

Entre a administração de bST-r, dia de administração de BE e momento da avaliação da presença de corpos lúteos de < 1, de 1 a 2, de 2 a 3, de 3 a 4 e > 4 cm^2 não houve interação e nem efeito dos tratamentos ($P>0,05$), mas apresentou efeito do momento da avaliação ($P<0,05$; Tabela 2). Pode-se observar que a maioria das vacas encontrava em anestro, devido a pequena quantidade de corpos lúteos de qualquer classe.

Tabela 2. Classificação do corpo lúteo com diâmetro maior que 1 cm^2 , em função da administração de bST-r, do dia de administração de BE e do momento de avaliação

| Item ¹ | Área do corpo lúteo (cm^2) ² | | | | |
|----------------------------|---|-------------|------------|------------|------------|
| | < 1 | 1 a 2 | 2 a 3 | 3 a 4 | > 4 |
| Administração de bST | | | | | |
| TControle | 0,03±0,02a | 0,03±0,03a | 0,03±0,02a | 0,04±0,02a | 0,01±0,01a |
| TbST | 0,04±0,02a | 0,07±0,03a | 0,04±0,02a | 0,01±0,02a | 0,00a |
| Dia da administração de BE | | | | | |
| TBE8 | 0,02±0,02a | 0,06±0,03a | 0,04±0,02a | 0,03±0,02a | 0,00a |
| TBE9 | 0,05±0,02a | 0,04±0,03a | 0,02±0,02a | 0,02±0,02a | 0,01±0,01a |
| Momento de avaliação | | | | | |
| 0 | 0,00b | 0,10±0,03a | 0,05±0,03a | 0,03±0,02a | 0,03±0,01a |
| 4 | 0,00b | 0,06±0,03ab | 0,08±0,03a | 0,07±0,02a | 0,00a |
| 8 | 0,12±0,03a | 0,03±0,03b | 0,00a | 0,00a | 0,00a |
| 10 | 0,00b | 0,00b | 0,00a | 0,00a | 0,00a |

¹TControle= sem administração de bST. TbST= administração de 500 mg de bST no dia 4. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + $PGF_{2\alpha}$ + BE + eCG; D10, IATF 44 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + $PGF_{2\alpha}$ + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB.

²Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, diferem entre si pelo teste t ($P<0,05$).

Ao considerar o momento de avaliação, em razão dos efeitos dos hormônios administrados quanto ao número de corpos lúteos por vaca, observou-se ($P<0,05$) formação de corpo lúteo < 1 cm^2 e diminuição dos corpos lúteos de 1 a 2 cm^2 até o dia 8. Os corpos lúteos de 2 a 3 e de 3 a 4 cm^2 não se alteraram ($P>0,05$) até a avaliação do dia 4, se desintegrando após. Já a classe de corpos lúteos > 4 cm^2 foi observada apenas no dia 0.

Não houve interação ($P < 0,05$) entre efeito da administração de bST-r e dia de administração de BE para os intervalos da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV) e taxa de ovulação das vacas (Tabela 3). Também não foi observado efeito ($P > 0,05$) da administração de bST, mas pôde ser observado que os intervalos não apresentaram grandes variações. Quanto à variação do período da administração do BE, houve efeito apenas quanto ao intervalo da retirada do dispositivo à ovulação, o qual foi superior cerca de 3,5 horas. Esta variação é esperada devido às diferenças do período de ação do hormônio exógeno, mas o interessante é que a variação é pequena. Assim, o esperado é não prejudicar a fecundação, podendo reduzir em um dia o manejo das vacas. Não houve diferença ($P > 0,05$) quanto à taxa de ovulação, que foi baixa em todos os tratamentos, variando de 55 a 75%, o que compromete a eficiência reprodutiva do rebanho leiteiro nessas condições.

Tabela 3. Intervalos da retirada do dispositivo de progesterona (ROV) e da IATF à ovulação (IATFOV) e taxa de ovulação em vacas Girolando, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | ROV (horas) | IATFOV (horas) | Taxa de ovulação (%) |
|----------------------------|----------------|-------------------|-------------------------|
| Administração de bST | | | |
| TControle | 52,80±0,55 | 6,60±0,43 | 55,00 (11/20) |
| TbST | 51,96±0,53 | 5,63±0,41 | 75,00 (15/20) |
| Valor-P ² | 0,2830 | 0,1187 | 0,2124 ³ |
| Dia de administração de BE | | | |
| TBE8 | 50,63±0,59 | 5,63±0,46 | 61,11 (11/18) |
| TBE9 | 54,13±0,49 | 6,60±0,38 | 68,18 (15/22) |
| Valor-P ² | 0,0002 | 0,1187 | 0,6184 ³ |

¹TControle= sem administração de bST. TbST= administração de 500 mg de bST no dia 4. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 44 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB. ²Teste F. ³Teste χ^2 .

O BE utilizado para a indução da ovulação age por retroalimentação positiva na liberação pulsátil de LH. O tratamento com BE promove a liberação de um pico de LH, dentro de um intervalo de 16 a 30 horas (Lammoglia et al., 1998), a ovulação em cerca de 44,16 ± 2,21 horas após a sua administração (Barros et al., 2000) e neste experimento foi cerca de 50,63 ± 0,59 horas se administrado no dia 8 e 30,13 ± 0,49 horas se administrado no dia 9. Ao ser associado aos tratamentos com progesterona, BE e PGF_{2α}, induzem a ovulação sincronizada do folículo dominante presente no final do tratamento, otimizando o emprego da IATF (Baruselli, 2004). Neste experimento, foram verificados intervalos aproximados da administração do BE à ovulação no uso deste associado à

remoção do dispositivo de progesterona e à administração de PGF_{2α} e gonadotrofina coriônica eqüina (eCG, TBE8) ou se administrado 24 horas depois (TBE9). Portanto, o efeito associativo das administrações simultâneas de BE, PGF_{2α}, eCG e remoção do dispositivo de progesterona pelas condições fisiológicas proporcionadas às vacas antecipa o efeito do BE quanto ao pico de LH e à ovulação.

Não houve interação da administração de bST e do dia de administração de BE e nem efeito desses tratamentos sobre o diâmetro do maior e do segundo maior folículo no dia 10 e taxa de crescimento folicular ($P>0,05$; Tabela 4). O diâmetro do folículo ovulatório das vacas dos tratamentos variou em média de 8,16 a 9,51 mm. Em considerações gerais para rebanhos leiteiros, o diâmetro dos folículos ovulatórios foi pequeno. Deve ser observado que, apesar de ter sido observado maiores intervalos para ovulação das vacas do TbST e TBE9, não houve maior desenvolvimento médio do diâmetro do folículo dominante ou ovulatório. Na dinâmica folicular do ciclo estral, em vacas leiteiras da raça Holandês, Ginther et al. (1989) e Aleixo et al. (2005) relataram o diâmetro de folículos ovulatórios de segunda e terceira onda de aproximadamente 16,50; 17,20 e 13, 90; 20,00 mm, respectivamente, enquanto Taylor & Rajamahedran (1991) e Alves et al. (2002) observaram folículos acima de 10,00 e de 18,20 mm, respectivamente.

Tabela 4. Diâmetro do maior folículo no dia 8, do folículo pré-ovulatório e do segundo maior folículo no dia 10 e taxa de crescimento folicular, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | Dia 8 | | Dia 10 | | Taxa de crescimento folicular (mm/dia) |
|----------------------------|---------------------|------------------------------|-----------------------------|--|--|
| | Maior folículo (mm) | Folículo pré-ovulatório (mm) | Segundo maior folículo (mm) | | |
| Administração de bST | | | | | |
| TControle | 7,84±0,39 | 9,60±0,52 | 5,61±0,28 | | 0,71±0,21 |
| TbST | 8,47±0,39 | 10,61±0,46 | 5,02±0,27 | | 1,12±0,22 |
| Valor-P ² | 0,2648 | 0,1627 | 0,1384 | | 0,1783 |
| Dia de administração de BE | | | | | |
| TBE8 | 8,25±0,41 | 9,90±0,44 | 5,56±0,30 | | 0,85±0,24 |
| TBE9 | 8,06±0,37 | 10,31±0,53 | 5,07±0,25 | | 0,99±0,18 |
| Valor-P ² | 0,7307 | 0,5667 | 0,2255 | | 0,6457 |

¹TControle= sem administração de bST. TbST= administração de 500 mg de bST no dia 4. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 44 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB.

²Teste F.

Bó et al. (2008) descreveram a realização de experimento similar ao TBE9, diferindo pela dose de eCG de 400 UI, em vacas da raça Holandesa de alta produção de

leite. Foi determinado o diâmetro do maior folículo na remoção do dispositivo de progesterona, de 12,6 mm, do folículo pré-ovulatório de 15,5 mm, com taxa de crescimento de 0,8 mm. Na resposta obtida nas vacas da raça Girolando do TBE9, os diâmetros do maior folículo no dia 8 e do pré-ovulatório foram inferiores, diferindo pela alta taxa de crescimento.

Em estudo da fisiologia de vacas Girolando, Carvalho et al. (2008) encontraram diferença no diâmetro máximo do primeiro folículo ovulatório, de $17,7 \pm 0,26$ mm na época seca e de $16,2 \pm 0,21$ mm na estação chuvosa. Os autores justificaram que a diferença observada pode ter sido reflexo da melhor condição nutricional na estação seca, devido ao fornecimento de dieta de maior teor energético, o que pode ter influenciado a duração e intensidade do balanço energético negativo, com consequente incremento da atividade estrogênica do folículo dominante. Nas vacas em estudo da raça Girolando, foi verificado menor diâmetro médio dos folículos ovulatórios.

Schmitt et al. (1996) propuseram que o aumento da secreção pulsátil de LH, durante o período entre a luteólise induzida pela $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena e a remoção do progestágeno, permite crescimento mais uniforme do folículo pré-ovulatório. Embora não tenha sido observada diferença estatística, numericamente, a taxa de crescimento folicular das vacas dos tratamentos TControle e TBE9 foi rápida. Os efeitos sobre a taxa de crescimento que eram esperados pela administração do bST-r, relacionado à IGF-I, não foram observados.

Na avaliação do emprego de protocolos de IATF, é importante considerar o diâmetro do folículo ovulatório, já que, quanto maior o diâmetro do folículo ovulatório, maior a probabilidade de concepção (Vasconcelos et al., 1999; Colazo et al., 2003; Mussard et al., 2007). Justifica-se pela estreita relação entre o diâmetro do folículo ovulatório e o volume do corpo lúteo quanto aos níveis sanguíneos de progesterona sintetizados no próprio corpo lúteo (Vasconcelos et al., 1999a). Dessa forma, a taxa de prenhez em fêmeas submetidas à IATF pode ser comprometida na indução da ovulação de pequenos folículos, com formação de pequenos corpos lúteos e, conseqüentemente, menor produção de progesterona. Baixos níveis de progesterona circulante suprimem o desenvolvimento embrionário inicial (Garret et al., 1988; Mann et al., 2006). Pôde ser observado que o diâmetro dos folículos ovulatórios foi pequeno em todos os tratamentos, sem distinção dos protocolos quanto ao efeito da aplicação de eCG, em associação com as variações no momento das administrações de BE e da administração do bST-r.

Houve correlação ($P < 0,05$) entre prenhez e diâmetro do maior folículo no dia 8 e do folículo pré-ovulatório no dia 10 ($P < 0,05$; Tabela 5), indicando que, quanto maior o diâmetro do folículo nos dias 8 e 10, maior a probabilidade de prenhez da fêmea. Isto indica a importância de estabelecer protocolos que melhorem o desenvolvimento folicular no dia 8, e pelo desenvolvimento consequente, do dia 8 ao dia da IATF, concordando com Vasconcelos et al. (1999).

Tabela 5. Correlação de Spearman entre a prenhez na IATF e o diâmetro do maior folículo no dia 8, do folículo pré-ovulatório e do segundo maior folículo no dia 10 e taxa de crescimento folicular

| | Dia 8 | | Dia 10 | | Taxa de crescimento folicular |
|---------|---------------------|-------------------------|------------------------|--|-------------------------------|
| | Maior folículo (mm) | Folículo pré-ovulatório | Segundo maior folículo | | |
| Prenhez | 0,4039 (0,0119) | 0,3980 (0,0147) | -0,1761 (0,2971) | | 0,1665 (0,3112) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

No experimento II, não houve interação ($P > 0,05$) entre efeito da administração de bST, dia de administração de BE e taxas de prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada das vacas (Tabela 6). As taxas de prenhez na IATF foram apresentadas com variações de 32,00 a 37,00%. Também, houve similaridade nos resultados das vacas que ficaram prenhes na re-inseminação, variando de 62,22 a 72,22%. A taxa de prenhez acumulada variou de 60,00 a 64,00%, num período de 70 dias. Em rebanhos leiteiros, esse índice é satisfatório em termos de eficiência reprodutiva e econômica (Esslemont, 1991). Com esses dados, nota-se a eficiência dos protocolos hormonais de sincronização da ovulação quanto à regularização do ciclo estral das vacas. Portanto, eles podem ser empregados como estratégia eficiente, sincronizando períodos de nascimento favoráveis, períodos de pico de lactação desejados e sincronizados das vacas. Além disso, proporciona o controle de forma ideal do período de serviço e seleção das vacas pela eficiência reprodutiva.

Em rebanhos leiteiros criados em condições tropicais, mantidos em pastagens mal manejadas, há alta incidência e maior período de anestro pós-parto, afetando negativamente o desempenho reprodutivo (Lucy et al., 2004; Cavalieri et al. 2006). A administração de 400 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona resulta no aumento da concentração de progesterona plasmática e nas taxas de prenhez em vacas lactantes no anestro pós-parto (Baruselli et al., 2004; Bó et al., 2007). Provavelmente, este efeito contribuiu para as taxas de prenhez devido à considerável quantidade de vacas em anestro (76,62%) submetidas aos protocolos de IATF.

Tabela 6. Taxas de prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada das vacas, segundo os tratamentos

| Tratamento ¹ | IATF | Re-inseminação artificial | Acumulada |
|----------------------------|--|---------------------------|----------------|
| Administração de bST | | | |
| TControle | 35,64 ² (36/101) ³ | 72,22 (28/45) | 63,37 (64/101) |
| TbST | 33,33 (33/99) | 64,29 (27/42) | 60,61 (60/99) |
| Valor-P ² | 0,7415 | 0,8766 | 0,7333 |
| Dia de administração de BE | | | |
| TBE8 | 37,00 (37/100) | 64,29 (27/42) | 64,00 (64/100) |
| TBE9 | 32,00 (32/100) | 62,22 (28/45) | 60,00 (60/100) |
| Valor-P ² | 0,4618 | 0,8766 | 0,4988 |

¹TControle= sem administração de bST. TbST= administração de 500 mg de bST no dia 4. TBE8= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + BE + eCG; D10, IATF 44 horas após a retirada do DIB. TBE9= D0, + DIB + BE; D8, - DIB + PGF_{2α} + eCG; D9, + BE; D10, IATF 48 horas após a retirada do DIB.

²Teste χ^2 .

Veneranda et al. (2006) verificaram incremento da taxa de prenhez com a administração de 400 UI de eCG, em protocolos de IATF com dispositivo de progesterona no dia 8 e BE no dia 9 (44,9%), de vacas da raça Holandesa de alta produção, em comparação ao protocolo Ovsynch modificado pela inserção de dispositivo de progesterona por sete dias e, também, administração de eCG no dia 7 (30,6%). Os rebanhos Girolandos, avaliados neste experimento, apresentaram o período pós-parto médio de 128 dias, produção média de 11 kg de leite e cerca de 76,62% de vacas em anestro. As vacas submetidas ao protocolo TBE9, similar ao avaliado por Veneranda et al. (2006), não tiveram resposta tão eficiente quanto as vacas da raça Holandesa, o que pode ser relacionado a menor dose de eCG utilizada (300 UI). Em outro estudo, Veneranda et al. (2008) tornaram a verificar que as taxas de prenhez em vacas de alta produção de leite submetidas a protocolos com dispositivo de progesterona, BE e eCG (49,0%) são iguais ou superiores às obtidas com protocolos à base de GnRH (39,0%).

Gradela et al. (2008) trabalharam com novilhas e vacas leiteiras. As fêmeas receberam, no dia 0, o dispositivo intra-vaginal de liberação de progesterona (CIDR[®]) e uma injeção de BE; no dia 7, PGF_{2α}; no dia 9, o CIDR[®] foi removido e o indutor da ovulação, o cipionato de estradiol (ECP), foi administrado simultaneamente. A taxa de estro foi de 62% (31/50) e a taxa de concepção à primeira IA de 44% (22/50). Os autores concluíram que a administração de ECP no momento da retirada do CIDR favoreceu a ação da prostaglandina e aumentou a precisão da sincronização do estro e da ovulação, propiciando aumento da taxa de prenhez e redução do intervalo de parto de 15 para 12,5 meses, minimizando as diferenças na eficiência reprodutiva observadas com o aumento da produção leiteira. Com o uso do BE no dia 8 (TBE8), o resultado da

taxa de prenhez foi próximo ao obtido por Gradela et al. (2008). Assim, pode ser notada a importância de reduzir o número de vezes que as fêmeas são manejadas para diminuir o estresse.

Foi realizada a correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, na re-inseminação e acumulada) e as variáveis peso corporal, condição corporal, período de serviço, produção de leite e vacas em anestro (determinado pela ausência de corpo lúteo ao exame ultrassonográfico; Tabela 7). O peso corporal médio das vacas prenhes foi $466,56 \pm 51,58$ (média \pm desvio-padrão) kg, não apresentando nenhuma relação com as taxas de prenhez ($P > 0,05$). Como não houve correlação da condição corporal também, os resultados contrapõem à influência relatada por Moreira et al. (2000). O uso do eCG pode ter contribuído para essa avaliação, pois já há citações de que o eCG incrementa a taxa de prenhez em vacas de alta produção de leite e com baixa condição corporal (Bó et al., 2008). A condição corporal deve ser acompanhada no pré-parto e pós-parto de vacas leiteiras, pois a grande mobilização das reservas corporais pode ampliar o intervalo do parto ao primeiro estro e à ovulação em vacas leiteiras de alta produção (Roche et al., 1992), o que parece acontecer também em mestiços. Assim, vacas perdendo menos de 0,5; de 0,5 a 1,0 e mais de 1,0 unidade de escore ovularam, em média, aos 30, 36 e 50 dias pós-parto, respectivamente. Também, a taxa de concepção diminui 10% para cada 0,5 unidade de escore corporal que é perdida (Butler, 2005), comprometendo muito a fertilidade. Assim, atenção especial deve ser dada à relação condição corporal pré-parto, pós-parto e ciclicidade, para melhorar a eficiência reprodutiva em rebanhos de leite.

Tabela 7. Correlação de Spearman entre prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada e as variáveis peso corporal (PC), condição corporal (CC), período pós-parto (PP) e a produção de leite (PL)

| Prenhez | PV (kg) | CC (1-5) | PP (dias) | PL (kg) |
|---------------------------|---|---------------------|---------------------|---------------------|
| IATF | -0,0688 ¹ (0,3332) ² | -0,0951 (0,1804) | -0,0495 (0,4986) | -0,0755 (0,3071) |
| Re-inseminação artificial | 0,0100 (0,9270) | -0,1602 (0,1384) | 0,1773 (0,1110) | 0,0069 (0,9518) |
| Acumulada | 0,0303 (0,6690) | -0,0203 (0,7746) | 0,0229 (0,7543) | 0,0014 (0,9854) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

O período pós-parto das vacas prenhes foi de $125,48 \pm 73,78$ (média \pm desvio-padrão) dias, variando de 51,70 a 199,26 dias. De modo geral, este foi um fator importante para os protocolos de sincronização da ovulação utilizados, determinando a

eficiência em qualquer período pós-parto, considerando as diferenças fisiológicas das fêmeas. Carvalho et al. (2008) verificaram, em vacas mestiças F1 Holandês x Zebu, por meio de exame ultrassonográfico, que as taxas de ovulação foram de 19,6; 60,7 e 80,4%, aos 30, 60 e 90 dias pós-parto, respectivamente. Aos 90 dias pós-parto, 19,61% das vacas ainda não tinham ovulado, e não houve diferença no peso e escore de condição corporal ao parto ou na produção de leite entre as vacas que ovularam e as que não ovularam até 90 dias pós-parto. Lopez et al. (2005) verificaram 25% de vacas anovulatórias aos 71 dias pós-parto, independentemente da produção de leite. Nas vacas deste experimento, foi observada taxa muito superior às relatadas de vacas anovulatórias em período pós-parto, também superior, o que compromete a eficiência reprodutiva e a sustentabilidade da atividade.

Em rebanho da raça Girolando, participante do Programa de Monitoramento de Rebanhos Leiteiros (PMRL), desenvolvido pelo Instituto de Zootecnia na Estação Experimental de Zootecnia de Ribeirão Preto, SP, Brasil, no período de 1990 a 1999 (Freitas et al., 2002), foi relatado intervalo do parto ao primeiro serviço de 99 dias e intervalo do parto à concepção de 166 dias, em média. Os autores notaram redução gradativa dos valores destes intervalos ao longo do período de participação da fazenda no PMRL. Observaram, ainda, aumento do número de serviços por concepção nos últimos anos, justificando que este fato poderia ser atribuído a um maior número de animais controlados e melhor identificação do estro, fazendo com que maior número de doses de sêmen fosse requerido. A taxa de prenhez ao primeiro serviço e em todos os serviços, observada nos últimos anos da referida análise, foi entre 40 e 30%, respectivamente. Esslemont (1991) cita que, para se ter boa eficiência reprodutiva nos rebanhos, a taxa de prenhez deve ser da ordem de 45 a 55%. Com os dados dos rebanhos do presente estudo, pode ser observado que a estimativa dos índices período de serviço e intervalo de partos seria superior ao apresentado por Freitas et al. (2002), pela quantidade de vacas em anestro. Então, o uso da IATF é uma estratégia eficiente para redução desses índices, além de promover a regularização dos ciclos estrais das fêmeas, observado pelos dados da re-inseminação artificial.

Com a produção de leite das vacas registrada na inserção dos dispositivos de progesterona também não houve ($P>0,05$) correlação com a prenhez, significando que os protocolos tiveram a mesma eficiência em vacas com maior ou menor produção de leite.

Foi realizada a correlação de Spearman entre prenhez (na IATF, na re-inseminação e acumulada) e as variáveis relacionadas à dinâmica folicular do dia 0

(número total de folículos, diâmetros do folículo dominante > 7,5 mm e segundo maior folículo e vacas em anestro, determinadas pela ausência de corpo lúteo no exame ultrassonográfico (Tabela 8). Não houve correlação ($P>0,05$) entre número total de folículos, diâmetros do folículo dominante > 7,5 mm, segundo maior folículo e as vacas na condição fisiológica de anestro, estimada pela ausência de corpo lúteo na inserção do dispositivo de progesterona. Assim, os dados corroboram com Baruselli et al. (2004) de que o uso destes protocolos de IATF ou semelhantes para sincronização da ovulação, destacando a ação do hormônio eCG, é eficiente na taxa de prenhez mesmo em vacas em anestro na IATF ou na retomada da ciclicidade a curto prazo para fecundação. Assim, não foi notada influência da dinâmica folicular do dia 0 na taxa de prenhez.

Tabela 8. Correlação de Spearman para prenhez na IATF, na re-inseminação artificial e acumulada e o número total de folículos (NF), o diâmetro do folículo dominante > 7,5 mm (FD > 7,5 mm), do segundo maior folículo (SF) e a condição fisiológica de anestro nas vacas no início do experimento

| Taxas de prenhez | NF | FD > 7,5 mm | SF | Anestro |
|---------------------------|---|--------------------|---------------------|---------------------|
| IATF | -0,1030 ¹ (0,1466) ² | 0,0089 (0,9304) | -,1288 (0,3727) | -0,0053 (0,9403) |
| Re-inseminação artificial | 0,0462 (0,6708) | 0,1405 (0,3519) | 0,0301 (0,8889) | -0,0036 (0,9739) |
| Acumulada | -0,0535 (0,4507) | 0,0663 (0,5168) | -0,1705 (0,2366) | 0,0968 (0,1715) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Cardoso et al. (2006) trabalharam com vacas mestiças leiteiras mantidas a pasto, usando o protocolo: D0 – inserção de dispositivo intravaginal de P₄ associado à aplicação de cipionato de estradiol (2 mg); D7 - foi administrado PGF_{2α} (25mg); D9 - o dispositivo foi retirado e foi aplicado cipionato de estradiol (1,0mg) e a A IATF realizada 48 horas após a retirada do dispositivo. A concepção dos animais sem e com CL no dia 0 foi de 36,8% (70/190) e 34,4% (63/183), respectivamente. Os autores concluíram que a técnica de IATF permite manter uma boa relação com a concepção normal das vacas, em animais ciclando, de 75 a 85% e de animais em anestro, de 70 a 85%. Nas vacas Girolando em estudo, a concepção dos animais sem e com CL no dia 0 foi de 34,64% (53/153) e 34,04% (16/47). Assim, foi muito similar a resposta nos dois experimentos.

Baruselli et al. (2003) trabalhando com vacas Nelore paridas (75 ± 19 dias pós-parto), mantidas a pasto, verificaram efeito positivo da eCG conforme o grau de anestro.

Em animais em anestro, sem a presença de CL e tanto com folículos grandes quanto pequenos, houve efeito positivo do tratamento com eCG, enquanto que, nos animais cíclicos, com presença de CL, não se notou aumento na taxa de concepção à IATF. Tem sido notado então que o efeito positivo do eCG é mais evidente conforme aumenta a intensidade do anestro (Cutaia et al., 2003), sendo relativo aos dados deste experimento.

Em vacas leiteiras de alta produção tem sido verificada redução da fertilidade com o aumento da produção de leite, devido ao elevado percentual de animais apresentando patologias reprodutivas no puerpério, ao aumento do anestro pós-parto e aos estros pouco evidentes e de menor duração (Wiltbank et al., 2006). Com isso, é notória a necessidade de adequações no manejo e intervenções precoces e rotineiras, visando a eficiência. Assim, em vacas da raça Girolando, deve-se ter atenção ao anestro pós-parto (Ferreira et al., 1992). Carvalho et al. (2008) sugeriram que o manejo reprodutivo deve ser baseado enfaticamente no acompanhamento da condição corporal e sua variação no pós-parto, como indicador de nutrição adequada, para garantir o rápido retorno à ciclicidade dos animais. Com as melhores condições fisiológicas e nutricionais das fêmeas, associadas a protocolos de IATF, resultados satisfatórios são esperados. No presente experimento, não foi verificada influência da produção de leite nem da condição corporal, sugerindo que a condição corporal dos animais estava adequada. Mas a relação condição corporal, produção de leite e balanço energético negativo em vacas de leite necessita ser muito bem monitorada para evitar altos índices de vacas anovulatórias.

Baseados no propósito de que a administração de somatotropina potencializa a secreção de somatotropina bovina e IGF-1 (Bilby et al., 1999), pretende-se que, de forma direta ou indireta, melhore o desenvolvimento folicular e o crescimento do CL com a secreção de progesterona (Lucy et al., 1995), estimulando a atividade secretória das glândulas endometriais e aumentando o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (Moreira et al., 2002). Haas et al. (2007) avaliaram o efeito da aplicação de somatotropina recombinante bovina (rbST) sobre a taxa de prenhez e a concentração sérica de progesterona em novilhas receptoras de embrião. Com a administração de 250 mg de bST-r nas novilhas, no dia do estro, foi obtida a taxa de prenhez de 46,6%, e de 50,0% nas que não receberam. A bST-r não afetou a taxa de gestação das novilhas receptoras. Também, não houve diferença quanto à concentração média de progesterona no dia da inovulação dos embriões, sendo de $1,71 \pm 0,74$ ng/mL nas novilhas que receberam o bST-r (n=22) e de $1,48 \pm 0,72$ ng/mL nas que não receberam (n=27). Os autores concluíram que a aplicação de 250 mg de rbST, durante o estro, em novilhas

receptoras de embrião, não afetou a concentração sérica de progesterona entre o sexto e oitavo dias, nem a taxa de prenhez no 28º dia após o estro. Já Morales-Roura et al. (2001) notaram o aumento da concentração de progesterona sérica com a administração de 500 mg de rbST em vacas leiteiras, durante o estro. Ao relacionar estas observações com o estabelecimento final da prenhez das vacas da raça Girolando, não foi verificado os efeitos do bST-r na administração no dia 4, associada aos protocolos de IATF.

Armstrong et al. (1995) observaram, em gado de corte, que a administração de bST aumenta a produção de leite e o peso do bezerro, quando iniciada após 100 dias pós-parto. Relataram, também, o aumento de IGF-I, insulina, glicose e ácidos graxos não esterificados. Já o desempenho reprodutivo não foi afetado pela administração de bST antes ou durante a estação de monta, o que corresponde ao que foi verificado neste experimento.

Conclusões

A administração de bST ou os diferentes intervalos da administração do benzoato de estradiol em relação à retirada do dispositivo de progesterona não interferem na avaliação da dinâmica folicular e nem altera a taxa de prenhez na IATF, na re-insmeinação artificial e, conseqüentemente, na taxa de prenhez acumulada.

A taxa de prenhez acumulada no período de 60 dias posteriores à IATF foi satisfatória em todos os tratamentos. Assim, pode ser recomendada a utilização da IATF em rebanhos leiteiros para melhoria da eficiência reprodutiva.

Recomenda-se o emprego do protocolo com administração de benzoato de estradiol no dia 0 e 8, por necessitar de um dia de manejo a menos, diminuindo a mão-de-obra.

Literatura citada

- ALEIXO, M.A.; KOZICKI, L.E.; WEISS, R.R. et al. A somatotropina recombinante bovina (bST-r) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.19-27, 2005.
- ALVES, N.G.; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D. et al. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça holandesa e mestiças holandês x zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.627-634, 2002.
- ARMSTRONG, J.D.; HARVEY, R.W.; POORE, M.A. et al. Recombinant bovine somatotropin increases milk yield and calf gain in diverse breeds of beef cattle:

- associated changes in hormones and indices of metabolism. **Journal of Animal Science**, v.73, n.10, p.3051-3061, 1995.
- BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A. et al. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF_{2α} and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.53, n.5, p.1121-1134, 2000.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L. et al. Adequação da dose de FSH (Follitropin-v) em protocolos de superovulação de vacas nelore (*Bos taurus indicus*) com inseminação artificial em tempo fixo (SOTF). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, XVII, 2003, Fortaleza. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.31, suppl.1, p. 244-245, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, n.1-4, p. 479-486, 2004.
- BILBY, C.R.; BADER, J.F.; SALFEN, B.E. et al. Plasma GH, IGF-1, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. **Theriogenology**, v.51, n.7, p.1285-1296, 1999.
- BÓ, G.A.; ADAMNS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol 17β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, n.8, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Exogenous control of follicular development in cattle. **Theriogenology**, v.43, n.1, p.31-40, 1995a.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, n.3, p.193-204, 1995b.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; PERES, L.C. et al. Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. In: **Reproduction in Domestic Ruminants VI**, Juengel JL, Murray JF and Smith MF (editors), Nottingham University Press, 223-236, 2007.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.E.; SOUZA, A.H. et al. Actualización sobre protocolos de IATF en bovinos de leche. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3º, 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: v.1, p.95-110, 2008.
- BUTLER, W.R. Nutrition, negative energy balance and fertility in the postpartum dairy cow. **Cattle Practitioner**, v.13, n.1, p.13-18, 2005.
- CACCIA M.; BÓ, G.A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, n.1, p.341, 1998.
- CARDOSO, B.L.; PESCARA, J.B.; VASCONCELOS, J.L.M. Protocolos de inseminação artificial em tempo fixo para vacas mestiças leiteiras. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, suppl.1, p.s428, 2006.
- CARVALHO, B.C.; RUAS, J.R.M.; FERREIRA, J.J. Fisiologia reprodutiva de vacas mestiças leiteiras no pós-parto. In: Simpósio de Reprodução de Bovinos, 3, 2008, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: [s.n.], 2008. 13p.
- CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; FITZPATRICK, L.A. et al. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.45-64, 2006.
- CHALUPA, W.; VECCHIARELLI, A.; GALLIGAN, D.T. et al. Responses of dairy

- cows supplemented with somatotropin during weeks 5 through 43 of lactation. **Journal of Dairy Science**, v.79, n.5, p.800-812, 1997.
- COLAZO, M.G.; GAVAGA, Q.A.; KASTELIK, J.P. et al. The effects of estradiol cypionate at CIDR removal and interval to fixed-time AI on pregnancy rates in beef cattle. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.215, 2003 (abstract).
- COLLIER, R.G.; VINICI, J.L. Potential therapeutics uses of bovine somatotropin in cattle. In: KENNEDY, J. (ed). **Advances in Dairy Technology**. Edmont, 1996, p. 211-225.
- CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D. et al. Effect of eCG treatment in postpartum beef cows synchronized with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and inseminated at a fixed-time. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.216, 2003 (abstract).
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- ESSELEMONT, R.J. 1991. **Fertility indices**. Farm Managent, Reading University Press, UK. p. 23-28.
- FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; VILLAÇA, H.A. Diagnóstico da situação produtiva e reprodutiva em rebanhos leiteiros da Zona da Mata, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.27, n.1, p.91-104, 1992.
- FREITAS, M.A.R.; GUILHERMINO, M.M.; SAMPAIO, I.B.M. et al. Avaliação do desempenho de um rebanho leiteiro comercial usuário de sistema informatizado. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**. v.10, n.1, p.30-34, 2002.
- GARRETT, G.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, n.2, p. 437–446, 1988.
- GINTHER, O.J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, n.1, p.223-230, 1989.
- GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A. et al. Pretreatment with recombinant somatotropin bovine enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, n.3, p.611-622, 1996.
- GRADELA, A.; DANIELI, T.; CARNEIRO, T. et al. Aumento da eficiência reprodutiva de novilhas e vacas leiteira cíclicas com o uso de cipionato de estradiol no momento da retirada do CIDR. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35., 2008, Gramado, RS. **Anais...** Gramado: Conbravet, p.1-6, 2008.
- HAAS, G.T.S.; FERNANDES, C.A.C.; COSTA, E.P. et al. Taxa de prenhez e concentração sérica de progesterona em novilhas receptoras de embrião tratadas com somatotropina recombinante bovina (rBST). **Revista Ceres**, v.54, n.311, p.1-7, 2007.
- IZADYAR, F.; VAN TOL, H.T.A.; HAGE, W.G. et al. Preimplantation bovine embryos express mRNA of growth hormone receptor and respond to growth hormone addition during *in vitro* development. **Molecular Reproduction and Development**, v.57, n.3, p.247-255, 2000.
- LAMMOGLIA, M.A.; SHORT, R.E.; BELLOWS, S.E. et al. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and

- postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F_{2α}. **Journal of Animal Science**, v.76, n.6, p.1662-1670, 1998.
- LOPEZ, H.; SARTORI, R.; WILTBANK, M.C. Reproductive hormones and follicular growth during development of one or multiple dominant follicles. **Biology of Reproduction**, v.72, n.4, p.788-795, 2005.
- LUCY, M.C.; THATCHER, W.W.; COLLIER, R.J. et al. Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, n.1, p.73-80, 1995.
- LUCY, M.C.; MCDUGALL, S.; NATION, D.P. The use of treatments to improve the reproductive performance of lactating dairy cows in feedlot or pasture based management systems. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, n.1-4, p.495-512, 2004.
- MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in the cow. **Veterinary Journal**, v.171, n.3, p.500-503, 2006.
- MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: past, present and future. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. **Anais...** Londrina: (s.n.), 2008. p.15-25, 2008.
- MORALES-ROURA, J.S.; ZARCO, L.; HERNANDEZ-CERON, J. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeatbreeding dairy cows. **Theriogenology**, v.55, n.9, p.1831-1841, 2001.
- MOREIRA, F.; RISCO, C.; PIRES, M.F.A. et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. **Theriogenology**, v.53, n.6, p.1305-1319, 2000.
- MOREIRA, F.; BADINGA, L.; BURNLEY, C. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. **Theriogenology**, v.57, n.4, p.1371-1387, 2002.
- MUSSARD, M.L.; BURKE, C.R.; BEHLKE, E.J. et al. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, n.4, p.937-943, 2007.
- PAVLOK, A.; KOUTECKA, L.; KREJCI, P. et al. Effect of recombinant bovine somatotropin on follicular growth and quality of oocytes in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.41, n.3, p.183-192, 1996.
- ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.28, n.1-4, p.371-378, 1992.
- RUAS, J.R.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. et al. Indução do estro no pós-parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.476-484, 2005.
- SAS. SAS/STAT User's Guide (Release 9.0), SAS Inst., Inc., Cary, NC. 2001.
- SANTOS, J.E.P. Impact of fixed timed ai on reproductive efficiency of high-producing lactating dairy cows. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 3º, 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: v.1, p.111-126, 2008.

- SCHMITT, E.J.P.; DIAZ, T.C.; DROST, M. et al. Use of a GnRH agonist on human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. **Journal of Animal Science**, v.74, n.5, p.1084-1091, 1996.
- TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v.71, n.1, p.61-68, 1991.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. et al. Effects of hormonal treatments of reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.55, n.1, p.75-89, 2001.
- VASCONCELOS, J.L.M.; SANTOS, R.M.; COSTA, D.A. et al. Effects of progesterone concentration on size of the ovulatory follicle and double ovulation rate in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.82, n.1, p.99, 1999. (Abstract).
- VENERANDA, G. ; FILIPPI, L. ; RACCA, D. et al. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time ai protocols. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, n.2, p.118, 2006.
- VENERANDA, G. ; FILIPPI, L. ; RACCA, D. et al. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and GnRH or estradiol benzoate and eCG. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, n.1, p.91, 2008.
- WILTBANK, M. ; LOPEZ, H. ; SARTORI, R. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, n.1, p.17-29, 2006.

FLUSHING NUTRICIONAL EM PROTOCOLO DE SUPEROVULAÇÃO DE VACAS DA RAÇA NELORE

Resumo: Objetivou-se estudar a eficiência de associação de *flushing nutricional* sobre a resposta superovulatória, número, qualidade e morfologia dos embriões de vacas da raça Nelore. Os tratamentos foram: controle (TControle= 17 vacas) e *flushing nutricional* (TFlushing= 17 vacas). No TFlushing, forneceu-se a suplementação energética (1% do peso corporal), 3 dias antes a 18 dias depois do início dos protocolos de superovulação. O condicionamento do ciclo estral e superovulação das vacas foi: Dia 0 - inserção de dispositivo intravaginal de progesterona mais 2 mg de benzoato de estradiol (BE) injetável intramuscular (IM); Dia 7 - início do tratamento superovulatório com 140 a 164 mg de FSH-p administrado em doses decrescentes; Dia 9 - administrou-se 150 µg de PGF_{2α} IM no período da manhã e foi retirado o dispositivo de progesterona à tarde; Dia 10 - administrou-se 1 mg de BE de manhã; Dia 11 - realizaram-se duas inseminações artificiais após o início do estro com intervalo de 12 horas; no dia 18 - fez-se a coleta dos embriões. A resposta superovulatória, o número total de estruturas, o número de embriões viáveis, não-viáveis e ovócitos não foram afetados pelo incremento nutricional de energia. Coletaram-se cerca de 6,00 ± 1,15 e 3,38 ± 1,19 estruturas totais, 3,50 ± 0,82 e 2,08 ± 0,85 embriões viáveis, 0,79 ± 0,25 e 0,38 ± 0,26 embriões não-viáveis, 0,79 ± 0,22 e 0,38 ± 0,23 ovócitos por vaca nos TControle e TFlushing, respectivamente. Houve maior presença de mórulas (38,09%) e de blastocistos iniciais (25,00%). Não houve diferenças quanto a quantidade de núcleos de células (TControle= 56,35; TFlushing = 62,69) e de núcleos de células em divisão caracterizados pela metáfase (TControle= 1,27; TFlushing = 1,73) dos embriões viáveis. O incremento nutricional com energia e proteína por curto período em vacas da raça Nelore, não modificou a dinâmica folicular e a resposta superovulatória, no que se refere ao número e à viabilidade das estruturas coletadas.

Palavras-chave: biotecnologia, embriões, endocrinologia, energia alimentar, nutrição, gado de corte

Association of Nutritional Flushing into a Superovulatory Protocol in Nelore cows

Abstract: The objective was to study the efficiency of association of nutritional flushing on the superovulatory response, number, quality and morphology of embryos in Nelore cows. The treatments were: control (TControl = 17 cows) and *nutritional flushing* (TFlushing = 17 cows). In TFlushing energy supplementation (1% of body weight) was given from 3 days before to 18 days after the beginning of the superovulatory protocol. The conditioning of estrous cycle and superovulation of the cows was: Day 0 - insertion of intravaginal progesterone devices plus 2 mg estradiol benzoate (EB) i.m.; Day 7 - beginning of the superovulatory protocol with 140 to 164 mg FSH-p given in decreasing doses; Day 9 - 150 µg PGF_{2α} i.m. in the morning and progesterone device was removed in the afternoon; Day 10 - 1 mg EB i.m. in the morning; Day 11 - two artificial inseminations were performed after estrous onset in an interval of 12 hours; Day 18 - embryo collection was done. The superovulatory answer, the total number of structures, the number of viable embryos, nonviables and oocytes were not affected by the energy supplementation. Were collected about 6.00 ± 1.15 and 3.38 ± 1.19 of total structures, 3.50 ± 0.82 and 2.08 ± 0.85 of viable embryos, 0.79 ± 0.25 and 0.38 ± 0.26 of nonviable embryos, 0.79 ± 0.22 and 0.38 ± 0.23 of oocytes per cow in TControl and TFlushing, respectively. A greater presence of morula (38.09%) and of initial blastocytes (25.00%) were found. There were no differences on the quantity of cell nucleus (TControl = 56.35; TFlushing = 62.69) and on nucleus of

dividing cells characterized by metaphase ($T_{Control} = 1.27$; $T_{Flushing} = 1.73$) from viable embryos. The protein and energy supplementation in a short period in Nelore cows did not alter follicular dynamics and the superovulatory answer, in terms of number or viability of the collected structures.

Keywords: beef cattle, biotechnology, embryos, endocrinology, energy feed, nutrition

Introdução

A transferência de embriões (TE) é uma biotécnica de aplicação conhecida, pela qual há uma maximização na obtenção de descendentes, tanto do macho como da fêmea, com alto valor genético. Para o sucesso da transferência de embriões várias pesquisas foram realizadas quanto às variações na resposta superovulatória. Entre as quais se destacam a população de folículos (Boland et al., 1991), o momento de início dos tratamentos superovulatórios, a idade, o número de coletas (Hahn, 1992), a influência da nutrição das doadoras e a qualidade dos embriões (O'Callaghan & Boland, 1999; Boland et al., 2001; Figueira et al., 2005). Assim, deve-se melhorar a eficiência reprodutiva e pesquisar estratégias que possibilitem a maior viabilidade econômica em cada sistema de produção.

Os efeitos da nutrição podem atuar de forma “estática”, “dinâmica” e “imediate”, modificando o crescimento e a saúde dos folículos ovarianos (Borges, 2006). O termo estático refere-se à condição corporal do animal, que quando em animais de maior escore, aumenta a população e a viabilidade folicular (Rhind & McNeilly, 1986); o dinâmico refere-se às mudanças na condição corporal durante curtos períodos (três semanas) de suplementação (“*flushing*”), que resultam em efeitos semelhantes aos da condição estática (Smith & Stewart, 1990); e o imediato exercendo maior taxa ovulatória após quatro a oito dias de suplementação antes da ovulação, ao fornecer dietas ricas em energia/proteína, sem que haja, contudo, mudanças visíveis no peso vivo ou condição corporal (Stewart & Oldham, 1986).

A utilização do *flushing* nutricional tem melhorado a taxa de crescimento folicular e a de fertilidade após a sincronização de estro em vacas de corte (Ponsart et al., 1998). A maior ingestão de alimento aumenta a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, sendo o ácido propiônico capaz de estimular a secreção de insulina, que é o principal precursor de glicose em ruminantes. Animais com maior consumo de energia aumentam os níveis de glicose, insulina e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I, Santos & Amstalden, 1998). Todos esses metabólitos parecem influenciar a atividade secretória hipotalâmica-hipofisária (Butler & Smith, 1989) e potencializar o efeito das gonadotrofinas nas células ovarianas (Spicer & Echternkamp, 1995).

Objetivou-se verificar a influência da utilização do aumento da densidade energética e protéica (*flushing*) da dieta de vacas Nelore, sobre a dinâmica folicular no período superovulatório, a resposta superovulatória e a morfologia dos embriões.

Material e Métodos

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, no setor de bovinocultura de corte, no período de outubro a novembro de 2008. As avaliações do material coletado foram realizadas no Laboratório de Reprodução Animal do Departamento de Zootecnia da mesma instituição.

Foram utilizadas 34 vacas solteiras da raça Nelore, pluríparas, com escore da condição corporal igual a 5 (escala de 1 a 9) e peso vivo ente 320 e 490 kg. Todos os animais foram previamente submetidos a exame ginecológico por meio de palpação retal e ultrassonografia. As vacas foram mantidas em quatro pastos de *Brachiaria decumbens* com água à vontade. Para as vacas que não receberam a suplementação energética, o sal mineral foi disponível à vontade e o suplemento energético fornecido duas vezes ao dia (7h00 e 16h00) a 1,0% do peso corporal ao dia.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, compreendendo dois tratamentos, tratamento superovulatório controle (Tcontrole) e tratamento superovulatório com *flushing nutricional* (Tflushing).

O *flushing nutricional* baseou-se em concentrado energético, em base de MS, de 59,07% de fubá de milho, 35,54% de grão de soja e 5,39% de sal mineral (Tabela 1). O sal mineral continha por kg 115 g de cálcio; 80 g de fósforo; 100 g de sódio; 15 g de enxofre; 12 g de magnésio; 1,25 g de manganês; 3 g de zinco; 1,50 g de ferro; 1,5 g de cobre; 0,12 g de cobalto; 0,10 g de iodo e 0,03 g de selênio.

Tabela 1 Composição química dos alimentos e do concentrado (% na MS)

| Variável | Milho | Grão de soja | Concentrado |
|------------------|-------|--------------|-------------|
| MS | 88,53 | 91,31 | 89,93 |
| MO | 98,41 | 83,92 | 87,95 |
| PB | 13,63 | 35,46 | 17,46 |
| EE | 1,81 | 16,08 | 7,72 |
| FDNcp | 67,59 | 13,98 | 11,22 |
| CNF ¹ | 76,20 | 18,40 | 11,22 |
| NDT | 85,41 | 82,16 | 79,65 |

¹Carboidratos não-fibrosos: $100 - (\%PB + \%EE + \%MM + \%FDNcp)$.

O período experimental em cada vaca teve duração de 22 dias, compreendendo o período de adaptação dos animais ao Tflushing, ao condicionamento uniforme do ciclo estral e tratamento superovulatório, à coleta dos embriões e à pesagem das vacas no final do experimento. Assim, a duração de todo experimento foi de 35 dias.

O condicionamento à uniformidade do ciclo estral e superovulação das vacas

consistiu em: Dia 0 - inserção de dispositivo intravaginal de progesterona²⁴ mais 2 mg de benzoato de estradiol²⁵ injetável intramuscular (im); Dia 7 – início do tratamento superovulatório com 140 a 164 mg de FSH-p²⁶, ajustado pelo peso vivo e administrado em doses decrescentes (relação 40, 30, 20 e 10% por animal/dia); Dia 9 - administrou-se 150 µg de PGF_{2α}²⁷ im no período da manhã e à tarde foi retirado o dispositivo; Dia 10 – administrou-se 1 mg de benzoato de estradiol pela manhã; Dia 11 (D11) – realizaram-se duas inseminações artificiais após o início do estro com intervalo de 12 horas; No dia 18 (D18) - fez-se a coleta dos embriões (Figura 1).

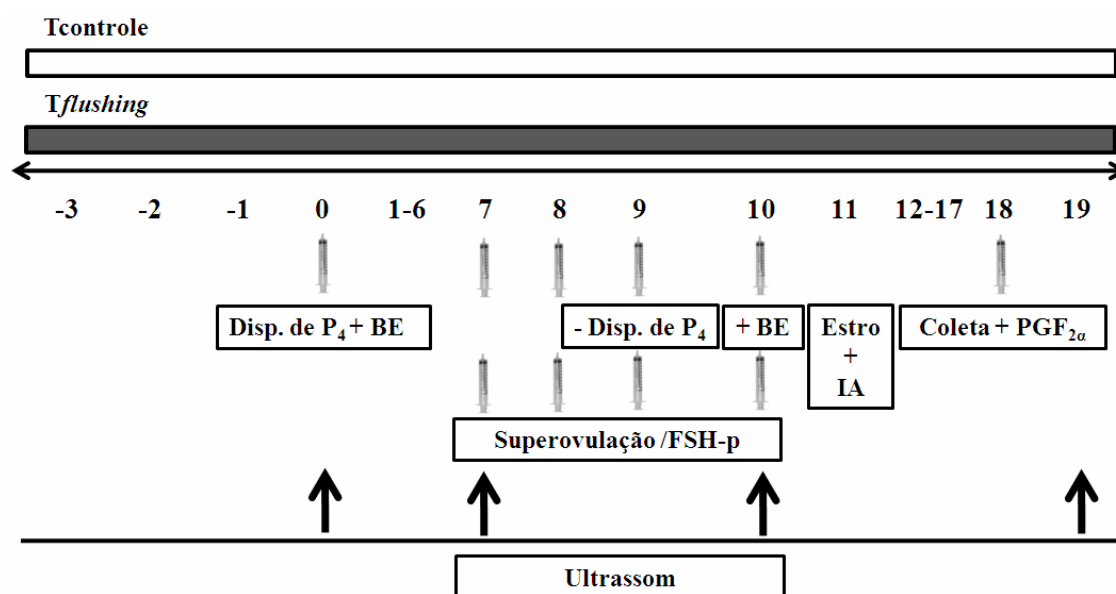


Figura 1. Esquema de aplicação dos tratamentos durante o período experimental.

A superovulação foi realizada em oito aplicações sequenciais diárias com doses decrescentes de FSH-p (esquema 40, 30, 20 e 10% da dose), a intervalos de 12 horas. A dose superovulatória foi de 140, 152 e 164 mg de FSHp para vacas com peso de 320 a 375, 380 a 413 e de 425 a 490 kg, respectivamente.

Foi utilizado sêmen de um touro adulto da raça Nelore com idade de cinco anos criado em condições extensivas. O sêmen foi obtido pelo método de eletroejaculação, sendo coletado cinco mL de sêmen, suficiente para congelar 80 palhetas finas. No sêmen *in natura* foram feitas avaliações físicas e morfológicas, coloração supravital e o teste hiposmótico. Posteriormente, o ejaculado foi diluído em meio diluidor utilizado

²⁴ 1,0 g Progesterona, DIB[®], Syntex S.A., Argentina.

²⁵ 1 mg/mL Benzoato de estradiol, RIC BE[®], Syntex S.A., Argentina.

²⁶ 400 mg NIH de FSH-SI/ 20 mL de solução bacteriostática de cloreto de sódio injetável, Folltropin-V[®], Syntex S.A. – Argentina.

²⁷ 0,75 mg/mL d-Cloprostenol, Prolise[®], ARSA S.R.L., Argentina.

para a criopreservação (Tabela 2) e congelado em palhetas de polietileno (0,25 mL) com 30 milhões de espermatozoides por dose e congeladas conforme protocolo preconizado por Morrow (1986). O resfriamento foi realizado por 5 horas em geladeira a 4°C, e 15 minutos a -120°C (vapor do nitrogênio líquido) para posterior armazenamento em nitrogênio líquido (-196°C).

Tabela 2. Composição química do diluidor base (Bioxcell® - IMV).

| Componentes | Quantidade |
|------------------------------|------------|
| Tris | 2,3 |
| Citrato de sódio | 6,2 |
| Cloreto de potássio | 0,8 |
| Frutose | 1,2 |
| Lactose monohidratada | 0,8 |
| Glicina | 0,2 |
| Glicose anidra | 0,5 |
| Taurina | 0,005 |
| Sulfato de gentamicina | 0,24 |
| Tartrato de tilosina | 0,33 |
| Linconspetina 100 | 0,38 |
| Glicerol | 40,2 |
| Hidrato de lactato de cálcio | 0,7 |
| Lecitina de soja | 1,5 |
| Ácido cítrico monohidratado | 2,5 |
| Água ultra pura q.s.p. | 1000 mL |

Fonte: IMV® - BRASIL.

A coleta dos embriões foi feita pelo método não cirúrgico e a lavagem realizada com a sonda de Foley posicionada no corpo uterino. O meio de cultura utilizado na colheita foi a solução comercial tampão fosfato salino²⁸ aquecido a 37°C.

As estruturas recuperadas foram classificadas quanto ao estágio de desenvolvimento de acordo com Lindner & Wright (1983), e quanto à sua morfologia segundo os parâmetros utilizados por Kennedy et al. (1983). Após identificados e classificados, os embriões foram fotografados com câmara fotográfica²⁹ com aumento de 10 vezes em microscópio estereoscópio. Utilizando as imagens fotográficas (Figura 2A, 2B) e com auxílio do software Image Pro-Plus^{®30}, mensurou-se a área, espessura e volume da zona pelúcida e do espaço perivitelino. Também foi determinada a área, o volume, o raio e o diâmetro da massa embrionária dos embriões coletados à fresco.

²⁸ Solução Tampão Fosfato Salino, DMPBS®, Nutricell Nutrientes celulares Ltda., Brasil.

²⁹ Máquina fotográfica W30 6.0 mega pixels, SONY®, São Paulo, Brasil.

³⁰ Media Cybernetics, Silver Spring, USA.

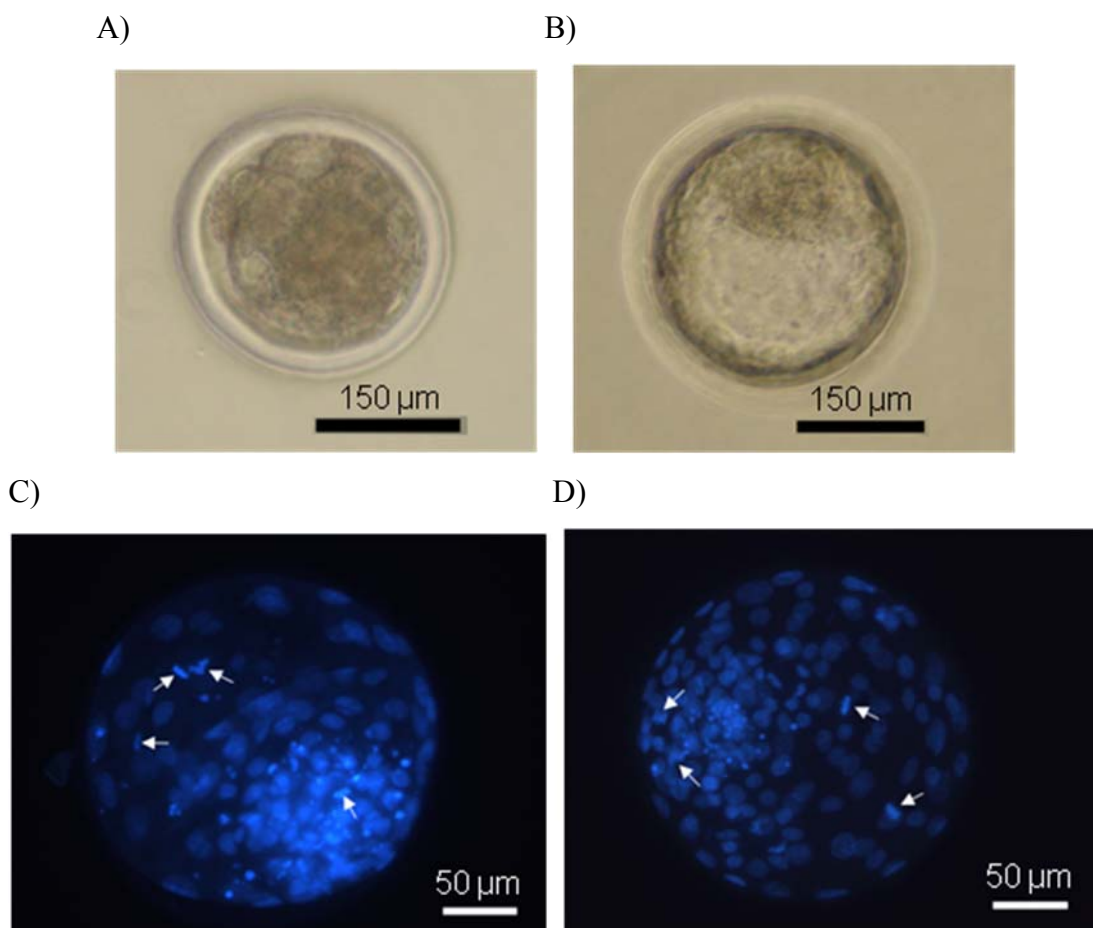


Figura 2. Representações fotográficas: A, B - Imagens fotográficas dos embriões no dia da coleta: A) Embrião estágio de mórula, grau I, coletado de vaca do TControle (Barra=). B) Embrião estágio blastocisto, grau I, coletado de vaca do *Tflushing* (Barra= 150 µm). 2) Embriões corados para contagem dos núcleos celulares. C, D - Imagens fotográficas dos respectivos embriões A e B corados com DAPI. As setas indicam núcleos em divisão (metáfase; Barras= 50 µm).

Os embriões foram fixados em formalina de Carson (Carson et al., 1973) por, no mínimo 4 horas, em geladeira à 4°C. Após a fixação, os embriões foram lavados em PBS e corados com diamidino-2-phenylindole (DAPI) por 15 minutos, lavados em água destilada e montados entre lâmina e lamínula com sacarose. As observações e captura das imagens foram efetivadas em microscópio³¹ de epifluorescência com filtro WU com câmera digital³² acoplada, no Laboratório de Citogenética de Insetos do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa. Em imagens de embriões corados (Figura 2C, 2D), realizou-se a contagem dos núcleos de células e de núcleos em divisão caracterizados pela metáfase.

³¹ BX60 Digital Scope, Olympus America Inc.®, São Paulo, Brasil.

³² Camera Digital Q-Color 3™ Camera System 5.0 mega pixels, Olympus America Inc.®, São Paulo, Brasil.

Para todas as análises estatísticas, utilizou-se o programa SAS 9.0 (2001) a 5% de probabilidade. As variáveis peso corporal, ganho de peso corporal, coberturas de gordura na costela e na garupa, medidas físicas dos embriões, número de folículos, diâmetro do maior e do segundo maior folículo, taxa de crescimento folicular, estruturas recuperadas e estágio de desenvolvimento embrionário foram analisadas em delineamento inteiramente casualizado por análise de variância. Os dados de escore de condição corporal pelo teste de Mann-Whitney.

A classificação folicular e a de corpo lúteo foram analisadas em parcela subdividida com efeito do tratamento na parcela e do dia de observação na subparcela, com comparação de médias pelo teste de Tukey.

Foi realizada correlação de Spearman entre estágio de desenvolvimento das estruturas recuperadas e qualidade embrionária com a área e o volume das estruturas embrionárias. Foi realizada correlação de Pearson entre as medidas dos embriões viáveis e entre o número de folículos de cada classe no dia 10, folículos > 8mm no dia 10 visualizados no dia 7 (Fol D7-D10), taxa de crescimento folicular do dia 7 ao dia 10 (Tcresc.) e número de estrutura coletadas (Est.), embriões viáveis, não-viáveis, degenerados e ovócitos.

Resultados e Discussão

Analisando o peso corporal das vacas no início e no final do experimento, o ganho médio de peso (GMD, kg/dia), a condição corporal e as coberturas de gordura na costela e garupa (mm), observam-se que essas variáveis foram uniformes ($P>0,05$) nos animais dos diferentes tratamentos (Tabela 3). Esperava-se que o ganho médio de peso fosse superior nas vacas que receberam o incremento nutricional (*TFlushing*), no entanto, não houve diferença estatística. Como o experimento foi realizado entre os meses de outubro e novembro, abrangeu o período de início das chuvas, tendo melhora das pastagens, o que explica o bom ganho de peso das vacas alimentadas só a pasto. Isso pode ser comprovado pela adequada condição corporal das vacas e pela medida das coberturas de gordura na costela e na garupa.

Tabela 3. Peso corporal inicial (PCi) e final (PCf), ganho médio diário (GMD), condição corporal e coberturas de gordura na costela e na garupa das vacas, em função dos tratamentos

| Variável | Tratamento ¹ | | Valor-P ² |
|-----------------------------------|-------------------------|--------------|----------------------|
| | TControle | TFlushing | |
| PCi (kg) | 394,47±10,17 | 394,65±10,17 | 0,9903 |
| PCf (kg) | 440,24±11,26 | 434,35±11,26 | 0,7143 |
| GMD (kg/dia) | 2,08±0,15 | 1,80±0,15 | 0,2003 |
| CC (escore 1-9) ³ | 4,76±0,10 | 4,82±0,10 | 0,6941 |
| Cobertura gordura na costela (mm) | 0,99±0,23 | 1,13±0,23 | 0,6491 |
| Cobertura gordura na garupa (mm) | 1,66±0,27 | 2,06±0,27 | 0,2003 |

¹TControle= tratamento controle; TFlushing= tratamento com *flushing*. ²Teste F. ³Teste de Mann-Whitney.

Não houve ($P>0,05$) interação de tratamento e dia de observação para classe do diâmetro folicular. Também, não houve efeito ($P>0,05$) do incremento nutricional (Tflushing) no número de folículos de acordo com a classe do diâmetro folicular, folículos <6 (pequenos), de 6 a 8 (médios) e >8 mm (grandes; Tabela 4). A utilização do *flushing* com o objetivo de aumentar a população folicular recrutada não diferenciou das doadoras mantidas apenas em pastagem. Esse resultado foi semelhante aos obtidos em experimentos de Cavalieri et al. (2000), que trabalharam com vacas das raças Simental e Blonde d'Aquitaine, e de Santos (2002), com vacas da raça Gir.

Tabela 4. Classificação folicular, em função dos tratamentos e do dia de observação

| Item ¹ | Diâmetro folicular (mm) | | |
|-------------------|-------------------------|------------|------------|
| | <6 | 6 a 8 | >8 |
| | Tratamento ² | | |
| TControle | 7,12±0,64a | 3,18±0,37a | 2,65±0,28a |
| TFlushing | 7,25±0,64a | 3,06±0,37a | 2,59±0,28a |
| | Dia ³ | | |
| 0 | 6,50±0,78b | 1,09±0,45b | 1,03±0,34b |
| 7 | 9,59±0,78a | 1,53±0,45b | 1,03±0,34b |
| 10 | 5,47±0,78b | 6,74±0,45a | 5,79±0,34a |

¹TControle= tratamento controle; TFlushing= tratamento com *flushing*. ²Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste F ($P<0,05$). ³Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Os efeitos da suplementação energética por curtos períodos, como neste experimento, têm sido menos compreendidos, apesar de já se saber que a alimentação com 200% dos requisitos de manutenção por três semanas aumenta a população de pequenos folículos (< 4 mm) em animais *Bos taurus taurus* (Gutierrez et al., 1997).

Considerando o efeito do dia de observação e a classificação folicular, as vacas apresentaram maior número ($P>0,05$) de folículos pequenos (<6 mm) no dia 7 e no dia

10 para os folículos médios (6 a 8 mm) e grandes (> 8 mm). Evidenciou-se, assim, o efeito do protocolo de superovulação com a administração inicial de benzoato de estradiol e inserção do dispositivo de progesterona objetivando a emergência de um *pool* de novos folículos até o início da superovulação no dia 7. Com os efeitos das administrações de FSH-p no tratamento superovulatório, foi estimulado o desenvolvimento em curto prazo dos folículos até o dia 10.

Em dietas avaliadas com aumento de energia e gordura foi observada elevação do número de folículos pequenos disponíveis no início da onda folicular, bem como a quantidade total de folículos pequenos e médios, e o número de ovócitos aspirados, sem alteração nas concentrações de hormônio folículo estimulante (FSH) e de hormônio luteinizante (LH; Nogueira, 2008). No mesmo trabalho, o autor constatou que a adição de energia por curto período de tempo para novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*) com moderada condição corporal melhora o desenvolvimento embrionário *in vitro*. No entanto, não foi observado esse efeito da energia das vacas suplementadas sobre o aumento dos folículos pequenos no dia 7 em relação às vacas do Tcontrole.

Além da energia, o fornecimento de gorduras na dieta pode elevar a concentração energética da mesma e afetar positivamente os parâmetros reprodutivos. Thomas & Willians (1996) relataram que a adição de caroço de algodão aumentou as concentrações séricas de hormônio do crescimento (GH), insulina, colesterol e de fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1). A dieta com caroço de algodão (15% de MS) proporcionou o consumo de 671 g/dia. Com base na estimativa de liberação de ácido linoléico no intestino delgado, que não passa pela biohidrogenação no rúmen, o animal pode ser absorver até 168 g desse ácido (Staples et al., 1998). Também, já foi relatado aumento na taxa de crescimento folicular em resposta a suplementação de óleo de soja (4% da MS) em vacas de leite (Thomas et al., 1997). Embora, não tenha sido avaliado as concentrações dos hormônios sugeridos, pode-se observar que indiretamente não houve influência sobre o *pool* de folículos que desenvolveram.

A maior ingestão de alimento aumenta a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) no rúmen, sendo o ácido propiônico capaz de estimular a secreção de insulina e o principal precursor de glicose em ruminantes. Animais com maior consumo de energia aumentam os níveis de glicose, insulina e IGF-I (Santos & Amstalden, 1998; O'Callaghan et al., 1999), influenciando a atividade secretória hipotalâmica-hipofisária (Butler & Smith, 1989), e potencializando o efeito das gonadotrofinas nas células ovarianas (Spicer & Echtenkamp, 1995). Ao não ser observadas diferenças quanto a quantidade e viabilidade dos embriões, nota-se que as respostas são diferentes em

relação ao aumento de energia, ou que exista fatores limitantes, como possivelmente, a quantidade de energia, a raça dos animais, a condição corporal e/ou as condições ambientais.

Novilhas de corte de 16 a 20 meses de idade, submetidas à *flushing* nutricional por 12 a 16 dias, tiveram o *pool* de folículos pequenos aumentados de 0,29 a 0,67 e de 0,68 até 1,57 mm, sugerindo que o aumento de energia pode alterar a taxa de crescimento e o número de folículos ovarianos (Maurasse et al., 1985). A utilização de *flushing* nutricional associado ou não ao bST em vacas das raças Simental e Blond'Daquitaine (Cavalieri et al., 2000), aumentou o número de folículos pequenos e médios antes da superovulação, mas não alterou a resposta superovulatória e a produção de embriões. Mas, neste estudo não foi notado esse efeito do *flushing* nutricional sobre o *pool* de folículos ou na produção de embriões.

Os folículos da classe > 8 mm (grandes) registrados no dia 7 foram visualizados também no dia 10. Não foi verificada diferença ($P>0,05$) na taxa de crescimento folicular para o Tcontrole (1,56 mm/dia) e Tflushing (1,50 mm/dia). No entanto, foram observados mais folículos > 8 mm visualizados apenas no dia 10, sendo folículos que apresentaram desenvolvimento rápido no intervalo de 3 dias (Tabela 5). Em todas essas características notou-se que não houve interferência do aumento da ingestão dos animais pelo *flushing* nutricional, ou seja, pelo incremento de energia.

Tabela 5. Número de folículos > 8 mm registrados no dia 7 e visualizados no dia 10, taxa de crescimento folicular (média±erro-padrão) e número de folículos > 8 mm no dia 10 que desenvolveram entre o dia 7 e dia 10, em função do tratamento

| Item | Tratamento | | Valor-P ² |
|---|------------|-----------|----------------------|
| | TControle | TFlushing | |
| Folículos > 8 mm visualizados nos dias 7 e 10 | | | |
| Número de folículos (vacas/dia) | 4,61±0,72 | 5,56±0,77 | 0,3727 |
| Taxa de crescimento folicular (mm/dia) | 1,56±0,12 | 1,50±0,13 | 0,7384 |
| Folículos > 8 mm desenvolvidos após o dia 7 até ao dia 10 | | | |
| Número de folículos (vacas/dia) | 0,78±0,34 | 0,69±0,36 | 0,8566 |

¹TControle= tratamento controle; TFlushing= tratamento com *flushing*. ²Teste F.

Não houve interação ($P>0,05$) entre tratamento e dia de observação para a classificação do corpo lúteo e nem efeito ($P>0,05$) da suplementação (Tabela 6). Entretanto, para o dia de observação, no dia 10 ocorreu o menor número de corpo lúteos menores que 3 cm², enquanto que para os que apresentaram área superior a esse valor, apresentaram ($P>0,05$) número de corpo lúteo iguais nos diferentes dias. Assim, pode-se

observar que os folículos maiores não regrediram com a aplicação da prostaglandina, o que pode comprometer a resposta do tratamento superovulatório.

Tabela 6. Classificação do corpo lúteo, em função dos tratamentos e do dia de observação

| Item ¹ | Área do corpo lúteo (cm ²) | | | | |
|-------------------|--|------------|-------------|------------|------------|
| | < 1 | 1 a 2 | 2 a 3 | 3 a 4 | > 4 |
| | Tratamento ¹ | | | | |
| Tcontrole | 0,06±0,04a | 0,27±0,05a | 0,08±0,04a | 0,02±0,01a | 0,00±0,01a |
| T <i>Flushing</i> | 0,10±0,04a | 0,27±0,05a | 0,06±0,04a | 0,00±0,01a | 0,04±0,01a |
| | Dia de observação ² | | | | |
| 0 | 0,09±0,04ab | 0,47±0,07a | 0,18±0,05a | 0,00a | 0,03±0,02a |
| 7 | 0,15±0,04a | 0,32±0,07a | 0,03±0,05ab | 0,03±0,02a | 0,03±0,02a |
| 10 | 0,00b | 0,03±0,07b | 0,00b | 0,00a | 0,00a |

¹TControle= tratamento controle; T*Flushing*= tratamento com flushing. ²Médias seguidos por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste F (P<0,05). ³Médias seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Das doadoras de embriões, 79,4% (Tcontrole= 13 vacas; Tflushing= 14 vacas) responderam ao tratamento superovulatório e 20,6% (Tcontrole= 4 vacas; Tflushing= 3 vacas) não responderam. Estes dados estão de acordo com Hahn (1992) que observou resposta negativa em até 30% das doadoras. Assim, do total de 34 vacas conseguiu-se coletar estruturas em 27 delas e, do restante, quatro não responderam e as outras três não se conseguiu transpor a cérvix, apesar da morfologia normal. Todas as doadoras demonstraram sinais clínicos de estro em torno de 40 horas após a administração da segunda dose do luteolítico. Nos experimentos de Borges et al. (2001) e de Donaldson (1983) cerca de 10% das doadoras não apresentaram estro. A individualidade biológica das doadoras foi uma variável nos resultados do experimento, embora a distribuição tenha sido bastante homogênea. Assim, para experimentos dessa natureza há necessidade de maior número ou melhor seleção de animais, principalmente com histórico de coletas. Entretanto, neste experimento não houve oportunidade para ser realizada essa etapa.

O incremento nutricional (Tflushing) não influenciou (P>0,05) a resposta das doadoras quanto a porcentagem de estruturas recuperadas à coleta, quando comparada àquela dos animais controle (Tabela 7). O número de estruturas colhidas por vaca superovulada variou de 0 a 16 (Tcontrole= 0 a 16; Tflushing= 0 a 10), demonstrando falta de uniformidade nas respostas ao tratamento, o que constitui um obstáculo a ser vencido para melhorar a eficiência do processo. Há algumas hipóteses que podem ser mencionadas quanto a essa variação de resposta em relação à superovulação, destacando-se que as vacas estavam se recuperando do estresse do período seco e

também as variações individuais à superovulação (Hahn, 1992). O efeito do período seco pode ser relacionado ao desenvolvimento dos folículos primordiais, já que o desenvolvimento até o estágio ovulatório dura cerca de 60 dias (Thibault et al., 1993).

Tabela 7. Estruturas recuperadas (média±erro-padrão) por vaca em função dos tratamentos

| Estruturas | Tratamento ¹ | | Valor-P ² |
|----------------------|-------------------------|-------------------|----------------------|
| | TControle | T <i>Flushing</i> | |
| Embriões viáveis | 3,50±0,82 | 2,08±0,85 | 0,2408 |
| Embriões não-viáveis | 0,79±0,25 | 0,38±0,26 | 0,2714 |
| Embriões degenerados | 0,93±0,28 | 0,54±0,29 | 0,3491 |
| Ovócitos | 0,79±0,22 | 0,38±0,23 | 0,2239 |
| Total | 6,00±1,15 | 3,38±1,19 | 0,1264 |

¹TControle= tratamento controle; T*Flushing*= tratamento com flushing. ²Teste F.

As médias de estruturas coletadas nos tratamentos Tcontrole e Tflushing foram de 6,00 e 3,38; respectivamente, com cerca de 3,50 e 2,08 embriões viáveis. O percentual de embriões avaliados como viáveis (Tcontrole= 58,3%; Tflushing= 61,5%) mostrou-se semelhante ao que foi encontrado por Borges et al. (2001) em novilhas mestiças, por Santos (2002) em vacas Gir, por Rigolon et al. (2003) em novilhas mestiças e vacas Nelore e por Coelho (1986) e Figueira et al. (2005) em animais da raça Nelore. Entretanto, foram inferiores aos de Elsdén et al. (1978) e superiores aos de Lindner e Wright (1983). Estas diferenças podem ser devidas à variabilidade das respostas superovulatórias entre os animais de raças européias, zebuínas e seus cruzamentos, uma vez que diversos fatores como idade, raça (Galina e Arthur, 1990), estação do ano e a presença de um folículo dominante no início do tratamento superovulatório (Monniaux et al., 1983; Lussier & Carruthers, 1989) podem comprometer a resposta ao tratamento superovulatório.

Bastos et al. (2007a) não encontraram diferença no número de folículos recrutados e ovulados entre vacas de corte mestiças com elevada condição corporal (CC) alimentadas com dieta de manutenção em relação às com alta ingestão alimentar, iniciada sete dias antes do início do protocolo de superovulação. Os autores detectaram maior número de estruturas totais e embriões viáveis coletados nos animais do grupo de manutenção. Outros autores também não encontraram aumento na população folicular ou melhoras na resposta de produção de embriões quando novilhas Nelore foram suplementadas com níveis aumentados de energia na dieta (Bastos et al., 2007b). Os dados obtidos pelo fornecimento do *flushing* nutricional às vacas Nelore com boa condição corporal corroboram com os estudos de Bastos et al. (2007a, b).

Entre os aspectos que podem ter influenciado os resultados do tratamento superovulatório, vale mencionar o período de adaptação, o qual deveria ter sido maior, e a dosagem dos hormônios utilizada. Mas também, Adamiak et al. (2005) observaram que o fornecimento de dietas com 200% dos requerimentos de manutenção associado à alta CC em bovinos, foi prejudicial à qualidade oocitária e produção *in vitro* de embriões, porém a alta ingestão alimentar em novilhas com baixa CC apresentou efeito positivo no desenvolvimento embrionário até o estágio de blastocisto. Foi sugerido que o *flushing* nutricional associado à alta CC nos animais possa exercer um efeito deletério sobre a maturação oocitária e produção de embriões, possivelmente devido à hiperinsulinemia observada neste grupo de novilhas (Bastos et al., 2007a, 2007b).

Os efeitos do incremento nutricional em curto período durante a superovulação de vacas, com aumento do recrutamento folicular (Maurasse, 1985; Ponsart et al., 1998), do número de ovulações e de embriões recuperados e do número de embriões transferíveis, não foram verificados neste experimento.

Como o tratamento superovulatório foi iniciado no dia 7 após a administração de benzoato de estradiol e inserção de dispositivo de progesterona, o esperado era que a superovulação tivesse iniciado em todas as vacas com folículos de primeira onda de crescimento folicular. Assim, a dose e a atividade biológica da gonadotrofina utilizada são fatores que podem afetar a resposta superovulatória. Como os animais que não responderam ao tratamento apresentaram crescimento folicular semelhante aos demais, porém sem ovulação, a dosagem hormonal pode ter sido inadequada quanto a viabilidade dos ovócitos nesses referidos animais.

A maior taxa de estruturas coletadas no sétimo dia encontrava-se nos estádios de mórula (Tcontrole= 1,93 embriões (38,09%); Tflushing= 1,09 embriões (29,54%) e blastocistos iniciais (Tcontrole= 1,14 embriões (25,00%); Tflushing= 1,09 embriões (36,36%); Tabela 8). Estes dados são semelhantes aos de Lindner & Wright (1983) e de Borges (2001), com coletas no sétimo dia. A menor ou maior porcentagem de um determinado estágio de desenvolvimento é em função do dia em que a coleta foi realizada (Shea, 1981). Mas também, a raça da doadora interfere, pois Coelho (1986) coletou embriões no sétimo dia e encontrou maior porcentagem de mórula compacta e blastocisto inicial para doadoras da subespécie *Bos taurus taurus*, e mórula e mórula compacta para *Bos taurus indicus*. No oitavo dia predominaram blastocistos e blastocistos expandidos para os taurinos e mórula compacta e blastocistos iniciais para os zebuínos. Estes dados demonstram que existe grande variabilidade individual no desenvolvimento e na qualidade embrionária, assim como variações entre as doadoras,

podendo ocorrer diferenças de até 24 a 48 horas na idade dos embriões (Lindner & Wright, 1983) e, deste modo, é importante considerar que o dia das coletas de embrião deve ser em função da raça do animal trabalhado.

Tabela 8. Estádio de desenvolvimento dos embriões viáveis (média±erro-padrão) coletados por vaca, em função dos tratamentos

| Estádio de desenvolvimento | Tratamento ¹ | | Valor-P ² |
|----------------------------|-------------------------|-----------|----------------------|
| | TControle | TFlushing | |
| Mórulas iniciais | 0,07±0,05 | 0,00 | 0,3867 |
| Mórulas | 1,93±0,45 | 1,09±0,50 | 0,2246 |
| Blastocistos iniciais | 1,14±0,43 | 1,09±0,49 | 0,9774 |
| Blastocistos | 0,29±0,11 | 0,09±0,12 | 0,2443 |
| Blastocistos expandidos | 0,07±0,09 | 0,08±0,10 | 0,4204 |

¹TControle= tratamento controle; TFlushing= tratamento com flushing. ²Teste F.

O aumento do conteúdo de energia e proteína na dieta por um curto período de tempo, pode ter diminuído a expressão de RNAm para IGFBP 2 e 4 (proteínas ligantes de IGF-I) nos folículos pequenos (<6 mm), aumentando a biodisponibilidade de IGF-I (Armstrong et al., 2001), o qual segundo Spicer & Echtenkamp (1995) aumenta a proliferação e diferenciação da granulosa, atuando como promotor de crescimento folicular. As concentrações de IGF-I elevam-se após suplementação de curto prazo, afetam a responsividade dos folículos às gonadotropinas, suprimindo a apoptose dos folículos ovarianos, reduzindo as taxas de atresia e aumentando o número de folículos que se desenvolvem até o estágio ovulatório (Scaramuzzi et al., 1999). O IGF-I atua amplificando os efeitos do FSH na estimulação do crescimento folicular aumentando a afinidade dos receptores de FSH nas células da granulosa (Adashi, 1992). Apesar de não ter sido notada diferenças quanto à proporção de embriões viáveis, a proporção destes das vacas que receberam a suplementação energética foi apresentada com pequena tendência a ser maior, o que também é notado quanto ao desenvolvimento dos embriões. Assim, pode ser que haja relação com o aumento da biodisponibilidade de IGF-I, melhor viabilidade dos ovócitos e embriões.

As doadoras que receberam o incremento nutricional com aumento de energia na dieta apresentaram embriões com tendência a estádios mais desenvolvidos (blastocisto inicial= 1,09 embriões) e com melhor avaliação quanto à qualidade (grau I= 1,46 embriões; Tabela 9), o que pode estar relacionado à alteração nas concentrações sanguíneas de glicose, de insulina, de hormônio do crescimento (GH) e de IGF-I proporcionando melhor oócito viável e condições de desenvolvimento. Há observações relacionadas ao nível de energia fornecido em excesso, implicando em redução da

produção e da qualidade dos embriões (Yaakub et al., 1999; Boland et al., 2001), talvez pelo aumento da concentração de glicose na circulação (O'Callaghan et al., 2000), afetando a qualidade do oócito (McEvoy et al., 1991). Mas também já foi observado aumento no crescimento folicular e no desenvolvimento dos embriões ao reduzir a quantidade de energia na dieta, próximo aos tratamentos superovulatórios (Staigmiller et al., 1979; McEvoy et al., 1995; Nolan et al., 1998). Nesse âmbito verificam-se as variações nos resultados de pesquisa, quanto ao efeito do nível de energia na dieta sobre a produção e viabilidade de embriões.

Tabela 9. Qualidade dos embriões recuperados (média±erro-padrão) das vacas, em função dos tratamentos

| Qualidade embrionária | Tratamento ¹ | | Valor-P ² |
|-----------------------|-------------------------|-----------|----------------------|
| | TControle | TFlushing | |
| Grau I | 1,86±0,45 | 1,46±0,47 | 0,5476 |
| Grau II | 1,64±0,48 | 0,62±0,50 | 0,1491 |
| Grau III | 0,79±0,25 | 0,38±0,26 | 0,2714 |
| Grau IV | 0,93±0,28 | 0,54±0,29 | 0,3491 |

¹TControle= tratamento controle; TFlushing= tratamento com flushing. ²Teste F.

Na contagem dos núcleos de células e dos núcleos em divisão, caracterizados pela metáfase, dos embriões viáveis não foram observadas diferenças pelo incremento nutricional de energia e proteína na dieta por curto período de tempo ($P>0,05$; Tabela 10). Almeida (2008) observou número médio dos núcleos dos embriões de vacas sem receber *flushing* e as que receberam foi inferior ao de embriões fertilizados *in vitro*. Este autor relata que encontrou em blastocistos, após 7 dias de cultivo, a média de $109\pm 25,2$ núcleos, e em blastocistos com 9 dias de cultivo, variações de 205 a 244 núcleos. No presente estudo, pode-se observar que os embriões das vacas alimentadas com o aumento de energia na dieta apresentaram tendência a mais núcleos em divisão, caracterizando desenvolvimento mais rápido.

Tabela 10. Números médios de células e de núcleos em divisão (metáfases) por embrião, em função dos tratamentos

| Item | Tratamento ¹ | | Valor-P ² |
|----------------------------|-------------------------|------------|----------------------|
| | TControle | TFlushing | |
| Células/embrião | 56,35±3,16 | 62,69±4,48 | 0,2507 |
| Núcleos em divisão/embrião | 1,27±0,18 | 1,73±0,26 | 0,1540 |

¹TControle= tratamento controle; TFlushing= tratamento com flushing. ²Teste F.

Nas avaliações das mensurações de área e volume dos embriões viáveis não

foram observadas diferenças ($P>0,05$) para a zona pelúcida e massa embrionária. Entretanto, para os animais que receberam o *flushing* nutricional a área e o volume do espaço perivitelíneo foram maiores ($P<0,05$). Já para as demais variáveis, observou-se tendência dos embriões das vacas do *TFlushing* apresentarem maior área e volume (Tabela 11). Nota-se assim o maior desenvolvimento embrionário, podendo estar relacionado aos fatores endócrinos, dos embriões coletados das vacas submetidas ao *TFlushing*.

Tabela 11. Área e volume da zona pelúcida, espaço perivitelino e massa embrionária dos embriões recuperados das vacas, em função dos tratamentos

| Item | Tratamento ¹ | | Valor-P ² |
|----------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------|
| | TControle | <i>TFlushing</i> | |
| | Área (μm^2) | | |
| Zona pelúcida | 5.879,4 \pm 219,0 | 6.366,7 \pm 300,7 | 0,1944 |
| Espaço perivitelíneo | 4.350,8 \pm 274,5 | 5.334,9 \pm 401,3 | 0,0470 |
| Massa embrionária | 9.544,4 \pm 371,33 | 9.980,5 \pm 509,8 | 0,4914 |
| | Volume (μm^3) | | |
| Zona pelúcida | 858.936,8 \pm 37.852,6 | 956.552,7 \pm 51.964,6 | 0,1332 |
| Espaço perivitelíneo | 525.931,3 \pm 36.700,2 | 658.039,9 \pm 53.642,1 | 0,0461 |
| Massa embrionária | 716.302,4 \pm 44.937,0 | 773.762,2 \pm 61.690,0 | 0,4540 |

¹TControle= tratamento controle; *TFlushing*= tratamento com flushing. ²Teste F.

Avaliando a correlação de Spearman entre estágio de desenvolvimento das estruturas recuperadas e qualidade embrionária com a área e o volume da zona pelúcida, do espaço perivitelíneo e da massa embrionária (Tabela 12), o estágio de desenvolvimento se correlacionou ($P<0,05$) negativamente com a área e volume do espaço perivitelíneo e positivamente com a área e o volume da massa embrionária. Portanto, quanto melhor o desenvolvimento, menor será o espaço perivitelíneo e maior a massa embrionária, em área e volume. Na avaliação pela qualidade, quanto melhor o grau avaliado dos embriões, maior ($P<0,05$) foi o volume do espaço perivitelíneo, com tendência da área.

Tabela 12. Correlação de Spearman entre estágio de desenvolvimento das estruturas recuperadas (Desenv) e qualidade embrionária (Qual) com a área (a) e volume (v) da zona pelúcida (ZP), do espaço perivitelíneo (EP) e da massa embrionária (ME) dos embriões recuperados das vacas

| | aZP | vZP | aEP | vEP | aME | vME |
|--------|---|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Desenv | -0,0406 ¹ (0,6725) ² | -0,0500 (0,6019) | -0,2781 (0,0044) | -0,2607 (0,0078) | 0,3555 (0,0001) | 0,3555 (0,0001) |
| Qual | -0,1407 (0,1407) | -0,0930 (0,3317) | -0,2781 (0,0544) | 0,2032 (0,0396) | -0,1569 (0,1000) | -0,1569 (0,1000) |

¹Coefficiente de correlação de Spearman. ²Valor-P.

Para a correlação de Pearson entre as medidas dos embriões viáveis (Tabela 13), as medidas da zona pelúcida e do espaço perivitelíneo se correlacionaram positivamente ($P > 0,05$), isto é, quanto maior a zona pelúcida em área e volume, maior o espaço perivitelíneo dos embriões. A massa embrionária apresentou correlação negativa ($P > 0,05$) somente com a área do espaço perivitelíneo, o que é esperado, pois quanto maior a massa embrionária, menor o espaço perivitelíneo.

Tabela 13. Correlação de Pearson entre área (a) e volume (v) da zona pelúcida (ZP), do espaço perivitelíneo (EP) e da massa embrionária (ME) dos embriões recuperados das vacas

| | aZP | vZP | aEP | vEP | aME | vME |
|-----|-----|---|--------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|
| aZP | | 0,9657 ¹ ($<0,0001$) ² | 0,2678 (0,0261) | 0,2594 (0,0314) | -0,0893 (0,4461) | -0,0834 (0,4768) |
| vZP | | | 0,3925 (0,0009) | 0,4174 (0,0004) | 0,0739 (0,5287) | 0,0774 (0,5093) |
| aEP | | | | 0,9811 ($<0,0001$) | -0,2848 (0,0177) | -0,2903 (0,0155) |
| vEP | | | | | -0,1085 (0,3751) | -0,1174 (0,3367) |
| aME | | | | | | 0,9959 ($<0,0001$) |

¹Coefficiente de correlação de Pearson. ²Valor-P.

Para a correlação de Pearson entre o número de folículos avaliados no dia 10 maior que 6 mm (Fol > 6), maior que 8 mm (Fol > 8), de 6 a 8 mm (Fol6-8), para o número de folículos maior que 8 mm visualizados no dia 7 e dia 10 (Fol D7-D10), taxa de crescimento folicular do dia 7 ao dia 10 (Tcresc.) e a quantidade de estruturas recuperadas, de embriões viáveis, não-viáveis, degenerados e ovócitos (Tabela 14), foi observado que quanto maior o número de folículos > 6 mm ou de 6 a 8 mm no dia 10,

maior o número de estruturas recuperadas. Foi observado também que quanto maior o número de folículos > 6 mm no dia 10, maior a quantidade de embriões degenerados e de ovócitos. Ainda foi notado que a quantidade de ovócitos foi maior nas vacas que apresentaram maior número de folículos > 8 mm no dia 10 e de folículos > 8 mm no dia 7 e 10. Também, foi observado que o número de embriões viáveis tendeu a ser maior nas vacas que apresentaram maior número de folículos de 6 a 8 mm no dia 10.

Tabela 14. Correlação de Pearson entre o número de folículos > 6 mm (Fol >6), > 8 mm (Fol >8) e de 6 a 8 mm (Fol 6-8) no dia 10, folículos > 8mm no dia 10 visualizados no dia 7 (Fol D7-D10), taxa de crescimento folicular do dia 7 ao dia 10 (Tcresc.) e número de estrutura coletadas (Est.), embriões viáveis, não-viáveis, degenerados e ovócitos

| | Fol >6 | Fol >8 | Fol6-8 | Fol D7-D10 | Tcresc |
|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--|---------------------|
| Est | 0,3910 (0,0438) | 0,1610 (0,4225) | 0,3918 (0,0433) | 0,1611 ¹ (0,4223) ² | -0,0885 (0,6607) |
| Embriões viáveis | 0,2559 (0,1976) | -0,0519 (0,7971) | 0,3736 (0,0549) | -0,0464 (0,8182) | -0,0130 (0,9485) |
| Embriões não-viáveis | 0,1743 (0,3845) | 0,1804 (0,3678) | 0,0938 (0,6418) | 0,2323 (0,2437) | -0,0395 (0,8450) |
| Embriões degenerados | 0,4010 (0,0382) | 0,3410 (0,0818) | 0,2709 (0,1717) | 0,2390 (0,2299) | -0,1611 (0,4220) |
| Ovócitos | 0,4100 (0,0337) | 0,4062 (0,0355) | 0,2340 (0,2400) | 0,4514 (0,0165) | -0,1694 (0,3984) |

¹Coefficiente de correlação de Pearson. ²Valor-P.

Conclusões

O fornecimento do *flushing* às vacas da raça Nelore por curto período não influencia a dinâmica folicular durante o tratamento superovulatório e a resposta superovulatória, no que se refere ao número e à viabilidade das estruturas coletadas no sétimo dia após a inseminação artificial. Porém, as doadoras que receberam o incremento nutricional com aumento de energia na dieta apresentaram embriões com tendência a estádios mais desenvolvidos e com melhor avaliação quanto à qualidade.

Literatura citada

ADAMIAK, S.J.; MACKIE, K.; WATT, R.G. et al. Impact of nutrition on oocyte quality: cumulative effects of body composition and diet leading to hiperinsulinemia in cattle. **Biology of Reproduction**, v.73, n.5, p.918-926, 2005.

- ADASHI, E.Y. Intraovarian regulation: the IGF-I example. **Reproduction, Fertility and Development**, v.4, n.5, p.497-504, 1992.
- ALMEIDA, A.B. Sistema biológico de aumento da taxa de prenhez. Embriões partenogênicos podem ajudar o reconhecimento materno da gestação. 2008. 88p. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- ARMSTRONG, D.G.; MCEVOY, T.G.; BAXTER, G. et al. Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production *in vitro*: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 1624–32, 2001.
- BASTOS, M.R.; RAMOS, A.F.; DRIESSEN, K. et al. Efeito do *flushing* nutricional sobre a resposta superovulatória em vacas mestiças. Abstract. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, Suppl.3, s1242, 2007a. (Abstract)
- BASTOS, M.R.; MARTINS, A.C.; MELO, L.F. et al. Efeito da condição corporal e da ingestão alimentar sobre a resposta superovulatória e produção embrionária em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, Suppl.3, s1243, 2007b. (Abstract)
- BOLAND, M.P.; GOULDING, D.; ROCHE, J.F. Alternative gonadotropins for superovulation in cattle. **Theriogenology**, v.43, n.1, p.5-17, 1991.
- BOLAND, M.P.; LONERGAN, P.; O'CALLAGHAN, D. Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. **Theriogenology**, v.55, n.6, p.1323-1340, 2001.
- BORGES, Á.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Resposta superovulatória de novilhas mestiças holandês-zebu tratadas com somatotropina bovina recombinante (rbST). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1439-1444, 2001.
- BORGES, Á.M. A nutrição e a eficiência reprodutiva de bovinos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia 43^a, João Pessoa-PB, **Anais...** SBZ: João Pessoa-PB, p.240-257, 2006.
- BUTLER, W.R.; SMITH, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.3, p.767-783, 1989.
- CARSON, F.L.; MARTIN, J.H.; LYNN, J.A. Formalin fixation for electron microscopy: a re-evaluation. **American Journal of Clinical Pathology**, v.59, n.3, p.365-373, 1973.
- CAVALIERI, F.L.B.; PEIXER, M.A.S.; PEREIRA, D.C. et al. Efeito do flushing nutricional associado ou não à rbST no crescimento folicular e produção de embriões em vacas das raças Simental e Blond D'Aquitaine. In: Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS, 28, 2000, Caldas Novas. **Anais...** Caldas Novas. 2000. p.235.
- COELHO, E.N. Alguns aspectos da transferência de embriões em bovinos. Belo Horizonte, MG: Escola de Veterinária da UFMG, 1986. 83p. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1986.
- DONALDSON, L.E. The effects of PGF_{2α} treatments in superovulated cattle on estrus response to embryo production. **Theriogenology**, v.20, n.3, p.279-285, 1983.
- ELSDEN, R.P.; NELSON, L.D.; SEIDEL JR. Superovulating cows with follicle stimulating hormone and pregnant mare's serum gonadotrophin. **Theriogenology**,

- v.9, n.1, p.17-26, 1978.
- FIGUEIRA, E.L.M.; RIGOLON, L.P.; PRADO, I.N. Efeito da condição corporal sobre as alterações metabólicas, hormonais, produção e viabilidade de embriões em vacas Nelore recebendo flushing nutricional. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v.27, n.1, p.11-16, 2005.
- GALINA, C.S.; ARTHUR, G.H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 5. Fertilization and pregnancy. **Animal Breeding Abstracts**, v.58, n.5, p.805-813, 1990.
- GUTIERREZ, C.G.; OLDHAM J.; BRAMLEY T.A. et al. The recruitment of ovarian follicles is enhanced by increased dietary intake in heifers. **Journal of Animal Science**, v.75, n.7, p.1876-1884, 1997.
- HAHN, J. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. **Theriogenology**, v.38, n.2, p.269-275, 1992.
- KENNEDY, L.G.; BOLAND, M.P.; GORDON, I. The effect of embryo quality at freezing on subsequent development of thawed cow embryos. **Theriogenology**, v.19, n.6, p. 823-832, 1983.
- IETS. **Manual da Sociedade Internacional de Transferência de Embriões**. International Embryo Transfer Society, 3.ed, São Paulo: SBTE, 1999. 180p.
- LINDNER, G.M.; WRIGTH, R.W. Bovine embryo morphology and evaluation. **Theriogenology**, v.20, n.4, p.407-416, 1983.
- LUSSIER, J.G.; CARRUTHERS, T.D. Endocrine and superovulatory responses in heifers pretreated with FSH or bovine follicular fluid. **Theriogenology**, v.31, n.4, p.779-794, 1989.
- MARTIN, R.; MOSCOSO, G.; SCARAMUZZI., R.J. et al. The effects of maternal hyperglycemia on embryonic development in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.21, p.37, 1998.
- MAURASSE, C.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Ovarian follicular populations at two stages of in estrus cycles given high energy diets. **Journal of Animal Science**, v.61, n.1, p.1194-1200, 1985.
- McEVOY, T.G.; ROBINSON, J.J.; AITKEN, R.P. et al. Dietary induced suppression of pre-ovulatory progesterone concentrations in superovulated ewes impairs the subsequent *in vivo* and *in vitro* development of their ova. **Animal Reproduction Science**, v.39, n.1-2, p.89-107, 1995.
- McEVOY, T.G.; SINCLAIR, K.D.; STAINES, M.E. et al. *In vitro* blastocyst production in relation to energy and protein intake prior to oocyte collection. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.19, Abstract series, p.51, 1991. (Abstract)
- MONNIAUX, D.; CHUPIN, D.; SAUMANDE, Y. Superovulatory response of cattle. **Theriogenology**, v.19, n.1, p.58-81, 1983.
- NOGUEIRA, E Efeitos da suplementação energética e lipídica no perfil metabólico, desenvolvimento folicular e produção *in vitro* de embriões em novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*). 2008. 87f. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal, UNESP, Jaboticabal, 2008.
- NOLAN, R.; O'CALLAGHAN, D.; DUBY, R.T. et al. The influence of short-term changes on follicle growth and embryo production following superovulation in beef heifers. **Theriogenology**, v.50, n.8, p.1263-1274, 1998.

- O'CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Nutritional effects on ovulation, embryo development and the establishment of pregnancy in ruminants. **Journal of Animal Science**, v.68, n.2, p.299-314, 1999.
- O'CALLAGHAN, D.; YAAKUB, H.; HYTTEL, P. et al Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.118, n.2, p.303-313, 2000.
- PONSART, C.; KHIREDINE, B.; PONTER, A.A. et al. Influence of type of flushing on LH secretion, follicular growth and on the response to estrus synchronization treatment in postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.49, n.7, p.1409-1423, 1998.
- RHIND, S.M.; McNEILLY, A.S. Follicle populations, ovulation rates and plasma profiles of LH, FSH, and prolactin in Scottish Blackface ewes in high and low levels of body condition. **Animal of Reproduction Science**, v.10, n.1, p.105-115, 1986.
- RIGOLON, L.P.; PRADO, I.N.; CAVALIERI, F.L.B. et al. Efeito de diferentes níveis de ingestão de energia sobre a produção e viabilidade de embriões em novilhas e vaca. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.6, p.1304-1310, 2003.
- SHEA, B.F. Evaluating the bovine embryo. **Theriogenology**, v.15, n.1, p.31-42, 1981.
- SANTOS, J.E.; AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. In: ARQUIVOS DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE VETERINÁRIA, 26, 1998, Atibaia. **Anais...** Atibaia. 1998. p.19-89.
- SANTOS, E.S. Efeito do pré-tratamento com FSH ou bST, associado ao *flushing* nutricional, na resposta superovulatória em vacas Gir. 2002. 47p. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Agrárias), Faculdade de Agronomia e de Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2002.
- SCARAMUZZI, R.J.; MURRAY, J.F.; DOWNING, J.A. et al. The effects of exogenous growth hormone on follicular steroid secretion and ovulation rate in sheep. **Domestic Animal Endocrinology**, v.17, n.2-3, p.269-277, 1999.
- SMITH, A.J.; STEWART, R.D. Effects of nutrition on the ovulation rate of ewes. In: **Reproductive physiology of Merino sheep concepts and consequences**. The University of Western Australia, p.85-101, 1990.
- SPICER, L.J.; ECHTERNKAMP, S.E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with emphasis on domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, n.3, p.223-245, 1995.
- STAIGMILLER, R.B.; SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A. et al. Effect of nutrition on response to exogenous FHS in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.48, n.5, p.1182-1190, 1979.
- STEWART, R.; OLDHAM, C.M. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, 16, p.367-370, 1986.
- STAPLES, C.R.; BRUKE, J.M.; THATCHER, W.W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.81, n.3, p.856-871, 1998.
- THIBAUT, C.; LEVASSEUR, M.C.; HUNTER, R.H.F. **Reproduction in mammals and man**. Paris, Ellipses, 1993, 801p.
- THOMAS, M.G.; WILLIAMS, G.L. Metabolic hormone secretion and FSH-induced

superovulatory responses of beef heifers fed dietary supplements containing predominantly saturated or polyunsaturated fatty acids. **Theriogenology**, v.45, n.2, p.451-458, 1996.

THOMAS, M.G.; BAO, B.; WILLIAMS, G.L. Dietary fats varying in their fatty acid composition differentially influence follicular growth in cows fed isoenergetic diets. **Journal of Animal Science**, v.75, n.9, p.2512-2519, 1997.

YAAKUB, H.; O`CALLAGHAN, D.; BOLAND, M.P. Effect of type and quality of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. **Theriogenology**, v.51, n.7, p.1259-1266, 1999.

CONCLUSÕES GERAIS

Os efeitos da administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável, da administração do benzoato de estradiol à retirada do dispositivo de progesterona em intervalos de 0 e 24 horas e de estimulantes gonadotróficos exógenos (eCG e FSH-p) não influenciam a dinâmica folicular de vacas de corte da raça Nelore. Assim como, a administração de bST-r, a administração do benzoato de estradiol à retirada do dispositivo de progesterona em intervalos de 0 e 24 horas e o uso estimulantes gonadotróficos exógenos em vacas de leite da raça Girolando.

A administração ou não do suplemento de aminoácidos e polipeptídeos injetável e os intervalos de 0 e 24 horas da administração do benzoato de estradiol à retirada do dispositivo de progesterona em protocolos de sincronização da ovulação não altera a taxa de prenhez na IATF, no repasse por touros e, conseqüentemente, na taxa de prenhez acumulada.

A taxa de prenhez na IATF e com o repasse por touros com o uso de eCG e FSH-p foram similares e satisfatórias para as vacas de corte da raça Nelore.

A adição de eCG ou FSH-p em protocolos de sincronização em vacas da raça Girolando não altera a taxa de prenhez na IATF.

A administração de bST-r ou os diferentes intervalos da administração do benzoato de estradiol em relação à retirada do dispositivo de progesterona em protocolos de sincronização da ovulação não altera a taxa de prenhez na IATF, na re-insmeinação artificial e, conseqüentemente, na taxa de prenhez acumulada.

Em vacas da raça Nelore e Girolando, recomenda-se o emprego do protocolo com administração de benzoato de estradiol no dia 0 e 8, por necessitar de um dia de manejo a menos.

Pode-se fazer a substituição da administração de eCG por FSH-p no dia 8. Além disso, pode-se sugerir ainda o uso de FSH-p para realizar inseminações com variações do intervalo da administração ao início da IATF de 42 a 48 h em vacas da raça Nelore. Esta maior amplitude de variação no intervalo facilita o uso da estratégia IATF em programas de inseminação artificial para grandes rebanhos. Em casos de rebanhos que tenham feito o uso repetido de eCG na sincronização da ovulação, pode-se utilizar FSH-p, para evitar reações imunogênicas.

A taxa de prenhez acumulada no período de 60 dias posteriores à IATF foi

satisfatória em todos os estudos. Assim, pode ser recomendada a utilização da IATF em rebanhos de corte e de leite para melhoria da eficiência reprodutiva.

O fornecimento do *flushing* às vacas da raça Nelore por curto período não influencia a dinâmica folicular durante o tratamento superovulatório e a resposta superovulatória, no que se refere ao número e à viabilidade das estruturas coletadas no sétimo dia após a inseminação artificial. Porém, as doadoras que receberam o incremento nutricional com aumento de energia na dieta apresentaram embriões com tendência a estádios mais desenvolvidos e com melhor avaliação quanto à qualidade.

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](#)