



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFLUÊNCIA DO eCG E FSHp NO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
TAMANHO LUTEAL E ÍNDICE DE PREENHEZ APÓS IATF EM VACAS DE CORTE
LACTANTES**

RODRIGO DORNELES TORTORELLA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

**BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2010**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFLUÊNCIA DO eCG E FSHp NO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
TAMANHO LUTEAL E ÍNDICE DE PREENHEZ APÓS IATF EM VACAS DE CORTE
LACTANTES**

Aluno: Rodrigo Dorneles Tortorella

Orientador: Jairo Pereira Neves

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 028/2010

**BRASÍLIA/DF
MARÇO DE 2010**

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

TORTORELLA, R.D. **Influência do eCG e FSHp no desenvolvimento folicular, tamanho luteal e índice de prenhez após IATF em vacas de corte lactantes**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2010, 67p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizando reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou do seu orientador. Citações são estimuladas desde que citadas as fontes.

FICHA CATALOGRÁFICA

TORTORELLA, R.D. **Influência do eCG e FSHp no desenvolvimento folicular, tamanho luteal e índice de prenhez após IATF em vacas de corte lactantes**. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2010, 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Animais) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2010.

1. Pós-parto. 2. eCG. 3. FSH. 4. Dinâmica folicular. 5. Volume luteal. 6. IATF. I. Título

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**INFLUÊNCIA DO eCG E FSH_p NO DESENVOLVIMENTO FOLICULAR,
TAMANHO LUTEAL E ÍNDICE DE PREENHEZ APÓS IATF EM VACAS DE CORTE
LACTANTES**

RODRIGO DORNELES TORTORELLA

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS ANIMAIS
COMO PARTE DOS REQUISITOS
NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO GRAU
DE MESTRE EM CIÊNCIAS ANIMAIS.**

APROVADA POR:

JAIRO PEREIRA NEVES, Doutor (UnB)

ALEXANDRE FLORIANI RAMOS, Doutor (EMBRAPA)

PAULO BAYARD DIAS GONÇALVES, Doutor (UFSM)

BRASÍLIA/DF, 05 de MARÇO de 2010.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ernani Azambuja Tortorella e Silvia Maria Dorneles Borges e a minha Bisavó Marina Dorneles (*in memorian*) pela dedicação e trabalho para que eu tivesse essa oportunidade de estudo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, especialmente meus pais Ernani e Silvia, minha avó Rose, Domingas e tia Marta;

Às minhas tias Édna, Helenice e tio Adilson, pela ajuda que me dão em Brasília que faz com que eu me sinta na minha própria casa;

A meu amigo e orientador Jairo Pereira Neves, que com sua sabedoria fez com que eu seguisse por este caminho. Agradeço-te pelas conversas profissionais e particulares que me fizeram crescer como profissional e ser humano;

Aos coordenadores do BioRep, Paulo Bayard Dias Gonçalves e João Francisco Coelho de Oliveira, que me propiciaram o ambiente do laboratório para que eu pudesse realizar meu trabalho;

Aos colegas do BioRep, em especial ao Marcos Barreta, Lucas Siqueira, Joabel Tonelloto, Gustavo Ilha, Rodrigo Camponogara, Rogério Ferreira, Gabriel Ribas, Jandui Escarião e Alfredo Bonet pela ajuda nas atividades do projeto que foi fundamental;

Ao amigo que conheci neste semestre, Olmiro Andrade Neto, que tenho certeza será um grande profissional e que teve grande participação no trabalho;

Aos proprietários e funcionários da Estância da Quinta que forneceu os animais para que os experimentos fossem realizados;

Ao Médico Veterinário Olmiro Andrade Filho pela ajuda operacional nas fazendas e pelas conversas e convivência que servirão de grande ajuda no futuro;

Aos amigos de Brasília Ives Yokota e Carlos Morris que conheço há 10 anos e que espero poder manter contato por muitos outros, já que aprendo muito com vocês;

À CAPES pela bolsa de estudo e ao CNPq pelo suporte financeiro;

Enfim, a todos que contribuíram e torceram por mim.

ÍNDICE

Capítulos/Sub-capítulos

Página

RESUMO	IX
ABSTRACT	XI
LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE TABELAS	XV
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES	XVI
CAPÍTULO 1	1
1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Objetivo Geral	3
1.2 Objetivos Específicos	4
1.3 Hipótese	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Desenvolvimento Folicular	5
2.2 Anestro Pós-Parto	9
2.3 Sincronização e Indução do Estro no Pós-Parto	12
2.3.1 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)	17
2.3.2 Hormônio folículo estimulante (FSHp)	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
CAPÍTULO 2	34
1 RESUMO	35
2 ABSTRACT	37
3 INTRODUÇÃO	39
4 MATERIAL E MÉTODOS	41
4.1 Experimento 1	41
4.2 Experimento 2	42
4.3 Experimento 3	44
4.4 Análise Estatística	45
5 RESULTADOS	46
5.1 Experimento 1	46
5.2 Experimento 2	48
5.3 Experimento 3	51

6 DISCUSSÃO	54
7 CONCLUSÕES	59
8 AGRADECIMENTOS	59
9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
CAPÍTULO 3 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
ANEXOS	66

RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar a influência da aplicação do hormônio folículo estimulante (FSHp) e da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em um programa hormonal de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) utilizado em vacas lactantes. Para todos os experimentos foram utilizadas vacas cruzas *Bos taurus* x *Bos indicus*, amamentando, 40-60 dias pós-parto e com condição corporal média 3 (1- muito magra e 5- muito gorda). Foi utilizado um protocolo hormonal de IATF base para todos os experimentos, que consistia na aplicação de benzoato de estradiol (2 mg, IM) e colocação de pessário vaginal com acetato de medroxiprogesterona (250 mg MAP; Dia 0). No dia 6 foi aplicado cloprostenol sódico (0,265 mg, IM), no dia 8 o pessário vaginal foi retirado e 24 horas após os animais recebiam GnRH (100 µg, IM), sendo inseminados 16 horas após. No experimento 1, os animais foram distribuídos em 4 grupos: Controle (n=6); eCG6 (n=6) foram aplicadas 400 UI de eCG IM no dia 6; FSH10 (n=5) 10 mg de FSHp IM no dia 6; FSH20 (n=5) 20 mg de FSHp IM no dia 6. Não houve diferença estatística entre os grupos quanto a tamanho dos folículos dominantes ($P>0,05$). No experimento 2, foram formados 5 grupos experimentais: Controle (n=4); eCG6 (n=7) foram aplicadas 400 UI de eCG IM no dia 6; FSH6 (n=6) 10 mg de FSHp IM no dia 6; eCG8 (n=6) 400UI de eCG no dia 8 e FSH8 (n=6) 10 mg de FSHp IM no dia 8. O tamanho médio dos folículos dominantes no dia 9 não diferiu, porém quando se analisa os dados das duas dinâmicas em conjunto existe diferença entre o grupo eCG6 (10,59±0,54 mm; n=12) para o Controle (9,51±0,55 mm; n=10) e FSH6 (9,12±0,52 mm; n=12) ($P>0,05$). O volume luteal no dia 5 após ovulação nos grupos Controle (n=2), eCG6 (n=6), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3) foi: 797,95±62,33 mm³, 2.059,63±247,79 mm³, 1.492,24±655,73 mm³ e 1.615,74±129,01 mm³, respectivamente. O grupo eCG6 foi superior ao Controle ($P<0,05$), porém não houve diferença entre os demais grupos. Nos dias 10 e 15 os corpos lúteos das vacas dos grupos Controle e FSH6 sofreram luteólise e os grupos eCG6 e eCG8 não diferiram

($P>0,05$). A taxa de prenhez entre os grupos eCG6 (23/96=23,96%) e eCG8 (14/103=13,59%) tendeu a diferir ($P=0,06$), porém o volume luteal no dia 10 após ovulação e taxa de ovulação não diferiram ($P>0,05$). A concentração de P_4 foi maior no grupo eCG6 ($9,38\pm 1,01$ ng/ml; $n=13$) em relação ao eCG8 ($5,39\pm 0,61$ ng/ml; $n=13$) no dia 10 pós-ovulação. Os resultados mostram que o folículo necessita de um estímulo hormonal para o crescimento, com ação nos receptores de FSH e LH, antes da retirada da fonte de progesterona. Em conclusão, nossos resultados evidenciam que a substituição do eCG pelo FSHp em vacas com cria cruzada *Bos taurus* x *Bos indicus* não é benéfica para aumentar os índices de prenhez do rebanho.

Palavras-chave: pós-parto, eCG, FSHp, dinâmica folicular, corpo lúteo e IATF.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of Follicle Stimulating Hormone (FSHp) and Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) using a Timed Artificial Insemination (TAI) in suckled beef cows. Only suckling cows (*Bos taurus* x *Bos indicus*) with a body condition (3) score on a scale of 1–5 (1 very thin; 5 very fat) were used in this study. Cows were treated with estradiol benzoate (2 mg, IM) and a vaginal device containing 250 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) on the first day of treatment. On day six, cows were treated with cloprostenol (0.265 mg, IM). The devices were removed on day eight and cows were treated with Gonadotrophin Release Hormone (GnRH; 100 µg, IM) 24 h after (day nine). All cows were inseminated after 16 h of GnRH administration. In experiment I, cows were randomly allocated in four treated groups as follow: Control (n=6), eCG6 (400 IU eCG on day six; n=6), FSH10 (10 mg FSHp on day six; n=5), and FSH20 (20 mg FSHp on day six; n=5). The average size of the dominant follicle on day nine did not differ ($P>0.05$). In experiment II, cows were randomly allocated in five treated groups as follow: Control (n=4); eCG6 (400 IU eCG on day six; n=6), FSH6 (10mg FSHp on day six; n=6), eCG8 (400UI eCG on day eight, n=6), and FSH8 (10mg FSHp on day eight; n=6). The average size of the dominant follicle on day nine did not differ. Both experiments showed no statistic differences. However, we observed a significative difference between the eCG6 group (10.59 ± 0.54 , n=12) compared to Control (9.51 ± 0.55 , n=10) and FSH6 (9.12 ± 0.52 , n=12) when data from both experiments were combined ($P<0.05$). In experiment II, we also observed the influences of the follicular growth and the day of hormone administration on the luteal volume on days 5, 10 and 15 after ovulation. On day five, the mean±S.E.M. luteal volume were: Control (797.95 ± 62.33 mm³, n=2), eCG6 (2059.63 ± 247.79 mm³, n=6), FSH6 (1492.24 ± 655.73 mm³, n=2), and eCG8 (1615.74 ± 129.01 mm³, n=3). The only difference was observed between Control and eCG6 treated groups ($P<0.05$) due to luteolysis occurred after 5 days. On days 10

and 15 after ovulation no difference was observed. After experiment I and II, we decided to use the eCG6 and eCG8 protocols to evaluate the pregnancy rates of 199 cows. Pregnancy rates showed a tendency to be different ($P=0.06$) when compared the eCG6 (23/96, 23.96%) to eCG8 (14/103, 13.59%) treated cows, although there were no difference on ovulatory rate and CL volume on day 10. Serum P_4 differ between eCG6 (9.38 ± 1.01 ng/ml; $n=13$) and eCG8 (5.39 ± 0.61 ng/ml; $n=13$) on day 10 post ovulation ($P<0.05$). Our results suggest that the follicle require a hormonal stimulus to its growth on FSHr and LHr before progestagens withdrawal. In conclusion, we provide evidence that the uses of FSHp instead of eCG in suckled beef cows in not beneficial to improve pregnancy rates.

Key-words: Postpartum, eCG, FSHp, follicular dynamic, corpus luteum and TAI.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

- Figura 2.1 - Delineamento experimental 1. Dia 0: colocação do pessário vaginal (250 mg de MAP) e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol IM; Dia 6: Aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol Sódico via IM; Dia 8: retirada do pessário; 24 horas após: Aplicação de 100 µg de GnRH IM. No dia 6 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG6 (n=7), 10 mg de FSH (n=7), 20 mg de FSH (n=7) ou não foi aplicado nenhum hormônio (n=7).42
- Figura 2.2 - Delineamento experimental 2. Dia 0: colocação do pessário vaginal (250 mg de MAP) e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol IM; Dia 6: Aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol Sódico via IM; Dia 8: retirada do pessário; 24 horas após: Aplicação de 100 µg de GnRH IM. No dia 6 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG6 (n=8) ou 10 mg de FSH no grupo FSH6 (n=8), ou no dia 8 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG8 (n=8) ou 10 mg de FSH no grupo FSH8 (n=8) ou não foi aplicado nenhum hormônio (n=8).43
- Figura 2.3 - Delineamento experimental 3. Dia 0: colocação do pessário vaginal (250 mg de MAP) e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol IM; Dia 6: Aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol Sódico via IM; Dia 8: retirada do pessário; 24 horas após: Aplicação de 100 µg de GnRH IM; Após 16 horas da aplicação de GnRH foi realizada a IATF. No dia 6 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG6 (n=96) ou no dia 8 400 UI de eCG no grupo eCG8 (n=103).44
- Figura 2.4 – Volume luteal nos dias 5, 10 e 15 após ovulação nos grupos: Controle (n=2), eCG6 (n=6), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3).49
- Figura 2.5 - Tamanho do folículo pré-ovulatório no dia da aplicação do GnRH (dia 9) nos grupos Controle (n=10), eCG6 (n=12) e FSH6 (n=11).51
- Figura 2.6 – Taxa de prenhez em vacas de corte 40-60 dias pós-parto submetidas ao protocolo eCG6 (23/96=23,96%) e eCG8 (14/103=13,59%) (P=0,06)*52

Figura 2.7 – Volume luteal no dia 10 após ovulação nos grupos eCG6 (n=13) e eCG8 (n=13) (P>0,05).	52
Figura 2.8 – Concentração de P ₄ nos dia 10 após ovulação nos grupos eCG6 (n=11) e eCG8 (n=9) (P>0,05).	53
Figura 2.9 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos: Controle (n=6), eCG6 (n=6), FSH10 (n=5) e FSH20 (n=7).	66
Figura 2.10 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos Controle (n=4), eCG6 (n=7), FSH6 (n=6), eCG8 (n=6) e FSH8 (n=6).	67

LISTA DE TABELAS**CAPÍTULO 2**

Tabela 2.1 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos: Controle (n=6), eCG6 (n=6), FSH10 (n=5) e FSH20 (n=7).	47
Tabela 2.2 – Efeito dos tratamentos hormonais nos experimentos 1, 2 e 3 sobre a taxa de ovulação ($P>0,05$).	47
Tabela 2.3 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos Controle (n=4), eCG6 (n=7), FSH6 (n=6), eCG8 (n=6) e FSH8 (n=6).	48
Tabela 2.4 – Concentração de P_4 nos dias 5, 10 e 15 após ovulação nos grupos: Controle (n=2), eCG6 (n=6), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3) ($P>0,05$).	50

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIACÕES

AMPc: adenosina monofosfato cíclico

Ang-II: angiotensina II

Arco: núcleo arqueado

AVPV: núcleo anteroventral periventricular

BE: benzoato de estradiol

CC: condição corporal

CIDR: dispositivo intravaginal de liberação lenta de progesterona

CL: corpo lúteo

eCG: gonadotrofina coriônica equina

FGF: fator de crescimento fibroblástico

FGFr: receptor para FGF

FSH: hormônio folículo estimulante

FSHp: hormônio folículo estimulante purificado

g: grama

GnRH: hormônio liberador de gonadotrofinas

GDP: guanosina difosfato

GTP: guanosina trifosfato

IA: inseminação artificial

IATF: inseminação artificial em tempo fixo

IGF: fator de crescimento semelhante à insulina

IGFBPs: proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina

IM: intramuscular

LH: hormônio luteinizante

MAP: acetato de medroxiprogesterona

MGA: acetato de melengestrol

mg: miligrama

mm: milímetro

POE: peptídeos opióides endógenos

PGF_{2α}: prostaglandina

UI: unidade internacional

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A reprodução tem papel fundamental na eficiência e rentabilidade do sistema de produção, no qual os baixos índices produtivos estão frequentemente associados à infertilidade prolongada durante o pós-parto. Período este, no qual o anestro pós-parto é determinante, pois está relacionado com o número de produtos produzidos pela fêmea e o tempo em que ela permanece improdutiva (Yavas & Walton, 2000a).

Em uma escala comercial para se alcançar a máxima produtividade de um rebanho cada fêmea deve produzir um bezerro por ano (Madureira & Pimentel, 2005). Porém, em grande parte das propriedades, o período de pós-parto se prolonga mais do que o desejado, possibilitando a permanência de animais subfêrteis e, conseqüentemente, diminuição da lucratividade da bovinocultura de corte (Neves et al. 1999).

Os programas hormonais são uma ferramenta que possibilitam a utilização da inseminação artificial (IA) com a finalidade de concentrar a mão-de-obra utilizada na propriedade, sincronizar e induzir a ciclicidade dos animais, diminuir os efeitos ambientais e da amamentação, e conseqüentemente melhorarem assim as taxas de prenhez do rebanho. Dentre as associações hormonais, o uso do benzoato de estradiol (BE) com progestágenos para sincronização e indução de estro em vacas de corte é utilizado com resultados satisfatórios mantendo uma média de prenhez de aproximadamente 50% (Bó et al. 2003; Colazo et al. 2004; Martinez et al. 2002; Martinez et al. 2005). Entretanto, existe uma variação muito grande nos resultados, que oscilam entre 25 e 70% (Baruselli et al. 2004a; Geary et al. 2001; Kasimanickan et al. 2006; Martinez et al. 2002; Siqueira et al. 2008).

Uma alternativa de associação hormonal para sincronização e indução do estro utiliza o acetato de medroxiprogesterona (MAP), o BE, a gonadotrofina coriônica equina (eCG), o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e a prostaglandina (PGF_{2α}). Este tratamento hormonal é utilizado em vacas com, no mínimo, 50 dias pós-parto e que

apresentem condição corporal mínima 3 (1- esquelética, 5- obesa; Wildman et al. 1982), tendo por objetivo antecipar o reinício da atividade cíclica e facilitar o manejo de vacas de corte lactantes (Borges et al. 2009; Siqueira et al. 2008).

Um dos fatores limitantes dos índices reprodutivos é a detecção de estro, que é passível de falhas, principalmente nas fêmeas *Bos indicus* (Galina et al. 1996), as quais apresentam estro de curta duração e muitas vezes durante a noite (Bó et al. 2003). Sendo assim, a diminuição deste manejo, através de programas hormonais, de grande importância para difundir a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) no rebanho bovino. Isto porque a sincronização e indução hormonal do ciclo estral facilitam o manejo da utilização da IA, quando utilizadas em conjunto, já que existe a concentração de estro em determinado período de tempo.

A capacidade de ovulação do folículo em um protocolo hormonal de IATF depende do tamanho folicular quando o indutor de ovulação é aplicado, sendo esta uma das causas da grande variação de resposta aos protocolos hormonais. O eCG e o desmame temporário são artificios que podem ser utilizados para atenuar essa variação da resposta. Este hormônio estimula o crescimento folicular final levando o folículo pré-ovulatório a um diâmetro compatível com a ovulação. O eCG vem sendo utilizado em protocolos de IATF como hormônio de escolha na indução do crescimento folicular (Ayres et al. 2007; Baruselli et al. 2004a, 2004b; Duffy et al. 2004; Rodrigues et al. 2004). Contudo, o eCG é uma molécula de alto peso molecular e quando usado repetidamente pode induzir a formação de anticorpos anti-eCG (Bényei & Barros, 2000), além de em alguns casos aumentar a taxa de gemelaridade. A partir disto, começaram a ser realizados estudos sobre o hormônio folículo estimulante (FSH) como sendo uma alternativa ao uso do eCG por incitar uma menor reação imunológica, ter maior disponibilidade comercial e ampla aceitação em vários países. Devido esta ampla característica do FSH, sua utilização pode contribuir para o aperfeiçoamento dos protocolos de sincronização e indução da ovulação, permitindo a obtenção de melhores índices de prenhez repetitivos.

1.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da aplicação do FSHp e do eCG em um programa hormonal de IATF utilizado em vacas lactantes cruza *Bos taurus* x *Bos indicus*.

1.2 Objetivos Específicos

Avaliar se o intervalo entre a aplicação do eCG e do FSH em relação ao GnRH interfere no crescimento do folículo dominante, taxa de ovulação, tamanho luteal e concentração de P₄ em vacas de corte lactantes;

Verificar a influência do FSHp em comparação com o eCG na taxa de prenhez das fêmeas tratadas com o protocolo hormonal.

1.3 Hipótese

A aplicação de FSHp proporciona um crescimento folicular, taxa de ovulação, tamanho luteal e concentração de P₄ semelhante a administração de eCG refletindo em um resultado de prenhez satisfatório em um rebanho de vacas *Bos taurus* x *Bos indicus* lactantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Desenvolvimento Folicular

Nos mamíferos domésticos os processos reprodutivos são controlados por uma ação em conjunto do sistema nervoso central e endócrino. Isto porque os estímulos recebidos pelo animal convergem para o hipotálamo onde são processados e traduzidos para um sinal hormonal, que por sua vez é enviado para a hipófise anterior onde é amplificado e transmitido às gônadas. O hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), produzido no hipotálamo, é um hormônio protéico que coordena a secreção do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH) na hipófise. A passagem dos hormônios do hipotálamo para a hipófise anterior se dá através de uma conexão vascular denominado de sistema porta-hipotálamo-hipofisário. Contudo, os hormônios produzidos na hipófise também fazem o caminho inverso ao hipotálamo, sendo esta a razão do hipotálamo poder ser regulado negativamente pelos hormônios hipofisários (*feed-back* negativo) (Rathbone et al. 2001).

O ciclo estral na vaca é caracterizado por modificações cíclicas e morfológicas em seus órgãos reprodutivos e comportamento sexual. Os bovinos são animais classificados como poliéstricos anuais, ou seja, ciclaram durante todos os meses do ano, a partir da puberdade, e em condições adequadas de criação. Seu ciclo estral tem duração de 18 a 24 dias, com média de 21 dias. O mesmo é dividido em 4 fases: pró-estro; com duração média de 3 dias, estro; de 6 a 18 horas, metaestro; de 2 dias e diestro; com duração de 15 dias. Outra divisão do ciclo estral utiliza a predominância hormonal na circulação sistêmica, dividindo-se o ciclo em fase progesterônica (metaestro e diestro) e estrogênica (pró-estro e estro). Na progesterônica, o útero se encontra com uma contração leve a mediana e há presença de corpo

lúteo em um dos ovários, e na fase estrogênica o útero apresenta-se bem contraído e encontra-se um folículo pré-ovulatório no ovário (Rathbone et al. 2001).

No período de 21 dias, os eventos dentro do ovário são dinâmicos e caracterizados por ondas, geralmente de 2 a 3 (Ginther et al. 1989), em que um grupo de folículos antrais, estimulados pelo FSH (Driancourt, 2001; Ginther et al. 1996), crescem em média 3 dias (emergência folicular) até que o futuro folículo dominante emerge e os subordinados entram em atresia (divergência folicular) (Ginther et al. 2001).

Após a divergência, a concentração circulante de FSH diminui devido ao *feed-back* negativo causado pelo estrógeno e inibina produzidos pelo folículo dominante. Estes dois hormônios agem na hipófise diminuindo a expressão do gene que codifica a subunidade β do FSH, por diminuir a transcrição e estabilidade do mRNA (Driancourt, 2001; Hurk & Zhao, 2005). A inibina é um hormônio protéico produzido pelas células da granulosa capaz de inibir a síntese e liberação do FSH pela hipófise, conferindo assim importante papel na regulação da retroalimentação da foliculogênese (Hafez & Hafez, 2004).

Com a dominância, o folículo passa a expressar receptores funcionais para LH nas células da granulosa e se torna dependente do mesmo (Evans & Fortune, 1997; Ginther et al. 1996). A síntese de estradiol pelo folículo pré-ovulatório envolve as células da granulosa e da teca interna, no qual a teca interna estimulada pelo LH produz testosterona, que é captada pelas células da granulosa, ao mesmo tempo em que o estímulo do LH nas células da granulosa aromatiza a testosterona em estradiol 17- β (Driancourt, 2001; Ginther et al. 1996; Hafez & Hafez, 2004). Nos folículos terciários que se destinam à atresia, as células da granulosa perdem esta habilidade de aromatização levando ao acúmulo de hormônio masculino no líquido folicular (Pimentel, 2002).

Depois de estabelecida a dominância, se a concentração de progesterona estiver alta, inibindo assim a pulsatilidade do LH, o folículo dominante não irá ovular e entrará em atresia, começando uma nova onda folicular (Adams et al. 1992). Entretanto, quando a concentração de progesterona está baixa, pela regressão luteal, o folículo dominante tem seu crescimento terminal, liberando maiores quantidades de estradiol para circulação sanguínea. O estradiol, através do *feed-back* positivo, estimula os picos do GnRH e consequentemente de LH, levando o folículo à ovulação (Ginther et al. 2001). Porém, é interessante ressaltar que menos de 0,1% dos folículos se desenvolverá a partir da fase pré-antral até a ovulação (Ireland, 1987; Moraes et al. 2008; Webb et al. 2007).

Com o pico pré-ovulatório de LH, ocorrem mudanças estruturais e bioquímicas nas células da teca e granulosa, resultando na luteinização e posterior formação do corpo lúteo

(CL). O CL formado é constituído de dois tipos celulares, as células luteínicas pequenas, que se originam da teca interna, e as células luteínicas grandes, advindas da camada granulosa (Meidan et al. 1990).

Caso não ocorra fecundação a $\text{PGF}_{2\alpha}$, é liberada pelo útero levando à luteólise e um novo ciclo iniciará. O mecanismo completo da luteólise não está totalmente esclarecido, mas acredita-se que a regressão do CL ocorra, entre outros motivos, pela redução local do fluxo sanguíneo. Isto devido a uma degeneração dos capilares luteais ocasionada pela liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, levando à isquemia e falta de nutrição para as células do CL (Cunningham, 1999; Spinosa et al. 2002). Durante a fase inicial e média da vida do corpo lúteo, a ligação da progesterona em seus receptores no endométrio inibe a expressão de receptores de estradiol e conseqüentemente de ocitocina. Em determinado momento, os receptores de progesterona sofrem um *down-regulation* não inibindo estes receptores de maneira eficiente. Com isso a ligação do estradiol em seus receptores aumenta a expressão de receptores de ocitocina e conseqüentemente a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (Senger, 2003). Ocorrendo a fecundação, o embrião sintetiza e secreta fatores fibroblásticos (interferon τ), entre os dias 15 a 26, que impedem a liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo endométrio, mantendo o CL e a produção de progesterona (Cunningham, 1999).

O completo mecanismo da dominância folicular ainda não está totalmente esclarecido, porém é sabido que vários fatores de crescimento estão envolvidos neste processo complexo. O sistema IGF (fator de crescimento semelhante a insulina) é um dos fatores envolvidos nas modificações foliculares que ocorrem da fase de dominância. No folículo dominante o crescimento em dimensão e o aumento da produção de estradiol são acompanhados por uma diminuição nas concentrações de inibina, ativina e IGFBP (proteínas ligadoras do fator de crescimento semelhante à insulina) e aumento do IGF-1 livre (Rivera et al. 2001). O IGF-1 é capaz de estimular a proliferação e diferenciação das células da granulosa e o aparecimento de receptores de LH nestas células (Armstrong et al. 1996; Spicer & Stewart, 1996). O mesmo também atua diretamente aumentando a esteroidogênese e indiretamente potencializando as ações do FSH e LH (Spicer & Stewart, 1996; Spicer et al. 2002).

Como pode ser observado, o sistema IGF faz parte do mecanismo de seleção e dominância folicular, entretanto, este não é o único. Existem outros mecanismos envolvidos na foliculogênese, como o fator de crescimento fibroblástico (FGF) (Berisha et al. 2004; Buratini et al. 2007), o sistema renina-angiotensina (Ferreira et al. 2009; Portela et al. 2006) e a kisspeptina (Messenger et al. 2005; Ohkura et al. 2008).

Foram encontradas proteínas e/ou mRNAs do FGF-1, 2, 7, 8, 10 e 13 (Buratini et al. 2005, 2007; Berisha et al. 2004) além de receptores para FGF (FGFr) 2b, 3c e 4 nas células de folículos antrais (Buratini et al. 2005). Apesar de agirem nas células da granulosa, os FGF-1, 2 e 7 são sintetizados nas células da teca (Berisha et al. 2004), sendo o FGF-7 capaz de diminuir a produção de estradiol nas células da granulosa. Com relação ao FGF-10, é possível que esteja envolvido nos processos de recrutamento e emergência folicular, pois sua expressão diminui com o crescimento do folículo antral (Buratini et al. 2007).

A angiotensina-II (Ang-II), um peptídeo parte do sistema renina-angiotensina, parece influenciar a foliculogênese. Portella et al. (2006) concluíram que durante o crescimento folicular ocorre um aumento na expressão de receptores tipo II nas células da granulosa, enquanto que os receptores do tipo I aparentemente não variam. O completo mecanismo de ação da Ang-II no crescimento folicular ainda não está totalmente esclarecido. Ela pode atuar como um fator angiogênico permitindo um maior fluxo de fatores que estimulam o crescimento folicular, ou diretamente, potencializando a ação de fatores de crescimento e gonadotrofinas. Desta maneira levando a ultrapassagem do folículo pela fase de restrição de gonadotrofinas. No que tange a reprodução em bovinos, a Ang-II está envolvida na maturação do oócito (Giometti et al. 2005), fecundação *in vitro* (Stefanello et al. 2006), crescimento folicular (Ferreira et al. 2009) e na indução da ovulação (Ferreira et al. 2007).

A kisspeptina assumiu um papel central na regulação do eixo hipotálamo-hipofisário-gonadal na medida em que foi descoberta a relação dos neurônios que a produzem com os neurônios do GnRH, estes possuindo receptores Kiss1r, no sistema nervoso central. A expressão de mRNA para a Kiss1 foi encontrada no cérebro de roedores no núcleo anteroventral periventricular (AVPV), núcleo arqueado (Arco), pré-núcleo anterodorsal (ADP), amígdala e núcleo da estria terminalis (BnST) (Gottsch et al. 2004). A proteína kisspeptina também foi encontrada em áreas homólogas em peixes (Kanda et al. 2008), ovinos (Messenger et al. 2005) e macacos (Shahab et al. 2005). Em estudo, Kauffman et al. (2007) verificaram em roedores que os neurônios Kiss1 no Arco são responsáveis pela estimulação tônica dos neurônios GnRH e regulados negativamente pelos esteróides gonadais, enquanto que no AVPV a expressão de Kiss1 é estimulada na presença de esteróides, sendo responsável pelo *feed-back* positivo do estrógeno no pico de GnRH pré-ovulatório em fêmeas. Porém, para ovelhas e primatas talvez este esquema não seja totalmente aplicável, pois o *feed-back* positivo nesses animais é advindo de neurônios kisspeptina mais da região do hipotálamo médio basal (região que inclui o arco) do que do AVPV. Alguns estudos corroboram com a idéia de que a kisspeptina estimula a liberação de GnRH, em camundongos (Gottsch et al.

2004), ratos (Matsui et al. 2004; Navarro et al. 2005), ovelhas (Messenger et al. 2005), macaco (Shahab et al. 2005; Plant et al. 2006) e em humanos (Dhillon et al. 2005).

A descoberta da Kisspeptina foi tão importante que estudos mais recentes revelam sua participação na sinalização da puberdade (Matsui et al. 2004; Seminara et al. 2003), no anestro lactacional (Ohkura et al. 2008), sendo um possível mediador entre status metabólico e reprodução (Dungan et al. 2006; Schneider, 2004; Smith et al. 2006), na diferenciação sexual (Lappato et al. 2007; Messenger et al. 2005) e até mesmo na sazonalidade (Goldman, 2001; Revel, 2006; Smith et al. 2007).

2.2 Anestro Pós-Parto

O prolongado período de anestro pós-parto é considerado o principal motivo das perdas econômicas na produção de gado de corte. As principais causas deste prolongamento são a subnutrição (estado nutricional pré e pós-parto) e o anestro lactacional (amamentação) que aumentam o período de aciclia e diminuem a eficiência reprodutiva pós-parto (Short et al. 1990). O anestro pós-parto, período desde o parto até a manifestação do primeiro cio fértil, também é influenciado por outros fatores, tais como: involução uterina (Yavas & Walton, 2000), produção leiteira (Bartlett et al. 1987), número de parições e exposição a touros após o parto (Fernandez et al., 1996).

A duração média da gestação de uma fêmea *Bos indicus* é de 290 dias e de *Bos taurus* 280 dias (Paschal et al. 1991), restando à fêmea, entre 75-85 dias de recuperação para que se tenha uma prenhez por ano. O prolongamento deste período pós-parto leva a perdas econômicas por aumentar o intervalo entre parto-concepção e com isso comprometer a eficiência reprodutiva do rebanho, impossibilitando assim alcançar 1 parto/vaca/ano, o que diminui a produção de bezerros e seu peso ao desmame (Yavas & Walton, 2000a).

Durante o período inicial do pós-parto, apesar de existirem ondas foliculares, os folículos dominantes não ovulam devido à baixa concentração hipofisária de LH (Yavas & Walton, 2000a) resultante da intensa retroalimentação negativa do estradiol 17- β antes do parto. A pulsatilidade de LH irá retornar ao normal com o decorrer do período de recuperação, entre 15-30 dias, ao contrário da liberação de FSH que se normaliza já na primeira semana pós-parto (Crowe et al. 1998). Após o restabelecimento do estoque hipofisário, a baixa frequência de pulsos de LH está relacionada principalmente com a amamentação e a condição

corporal (CC). Isso porque animais com estresse nutricional (Richards et al. 1991) e com cria ao pé demoram para produzir picos de LH em quantidades suficientes para ovulação. Devido a um aumento na sensibilidade do sistema gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo e ao *feed-back* negativo do estradiol 17- β ovariano, que leva a ausência de pulsos de GnRH e consequentemente de LH. Com o passar do tempo de pós-parto a sensibilidade do pulso gerador de GnRH diminui, aumentando a frequência de pulsos de GnRH e LH, levando assim à maturação folicular final e ovulação (Yavas & Walton, 2000a).

O primeiro ciclo estral pós-parto frequentemente tem menor duração (Werth et al. 1996) devido à luteólise precoce, além da vaca exibir menos os sinais de estro (Perry et al. 1991), pela falta dos efeitos da progesterona. A luteólise prematura é devido a uma liberação precoce da PGF_{2 α} uterina (Copelin et al. 1989), que está relacionada com as baixas concentrações de progesterona (Zollers et al. 1993) e estradiol (Mann & Lamming, 2000) antes da ovulação e/ou pela amamentação, que induz a secreção de ocitocina (Yavas & Walton, 2000b). Outra característica do ciclo curto é a formação de um CL de proporções reduzidas e com produção de progesterona em concentrações subluteais. Em um estudo, Ramirez-Godinez et al. (1982) sugeriram que a progesterona produzida durante os ciclos estrais curtos era importante para uma subsequente fase luteal de duração normal antes da primeira ovulação. Troxel et al. (1993) ratificaram esta idéia em experimento quando verificaram que o pré-tratamento com progesterona sintética no anestro pós-parto aumentou o número de vacas com CL com período de vida normal por agir na seleção e desenvolvimento do folículo dominante.

Com relação à CC, durante a fase de balanço energético negativo, o sistema nervoso central inibe a reprodução, diminuindo a liberação de GnRH e priorizando assim outros sistemas fisiológicos (Kriegsfeld et al. 2006). Sendo assim, vacas que ao parto apresentam baixa CC têm intervalo mais longo entre a parição e a primeira ovulação do que vacas com CC alta (Bastos et al. 2004; Vieira et al. 2005). Esta demora ao retorno da ciclicidade é devido a baixa frequência de pulsos de LH e ao retardo no desenvolvimento de folículos estrogênio-ativos (Pinto Andrade et al. 1995). Outros trabalhos também relacionam positivamente uma boa CC a eventos relacionados à reprodução como o desenvolvimento folicular precoce no pós-parto (Ryan et al. 1994), estoque hipofisário de LH aos 30 dias pós-parto (Connor et al. 1990), concentrações de IGF-1 circulantes e frequência de pulsos de LH (Bishop et al. 1994).

Com o avanço das pesquisas, sabe-se atualmente que a leptina, uma proteína secretada pelos adipócitos, é responsável pela ligação entre a nutrição e reprodução. O gene

responsável pela produção de leptina é o *ob*, sendo que em ratos obesos que apresentam hiperfagia existe uma mutação nesse gene (*ob/ob*), ocasionando assim a não produção da leptina e conseqüentemente problemas reprodutivos como a infertilidade. Entretanto, com a administração exógena da leptina os ratos resgatam fertilidade pelo aumento da liberação de LH e FSH (Mounzih & Chehab, 1997). Esse hormônio participa da liberação de LH por ação direta na secreção basal, e, indiretamente, na liberação do GnRH, sendo sua concentração plasmática regulada de acordo com a massa de tecido adiposo. Ou seja, sua concentração é diminuída com a perda de peso (Maffei et al. 1995). Por isso, vacas adultas que possuem concentrações séricas de leptina elevadas no pós-parto apresentam o período de parto-concepção reduzido (Strauch et al. 2003).

Maciel et al. (2004) evidenciaram que a aplicação exógena de leptina em novilhas submetidas a jejum previne a redução da frequência de pulsos de LH e aumenta a responsividade da hipófise ao GnRH. Em vacas em jejum após aplicação de leptina houve um aumento na insulina plasmática, na concentração de LH e conseqüentemente na pulsatilidade deste hormônio (Amstalden et al. 2002). Estes efeitos não são tão marcadamente observados em animais que se encontram em boas condições nutricionais (Zieba et al. 2004). Em bovinos, a concentração circulante de leptina e sua atividade variam em associação ou resposta a estímulos nutricionais, ambientais e de maturidade sexual (Williams et al. 2002).

Com relação à amamentação, esta diminui a liberação de GnRH e conseqüentemente de LH, por aumentar a sensibilidade do sistema liberador de GnRH ao *feed-back* negativo dos estrógenos ovarianos (Yavas & Walton, 2000a). Lamb et al. (1997) verificaram que o intervalo entre parto e primeira ovulação, foi menor em vacas em que o bezerro é desmamado ou impedido de ter contato com o úbere da fêmea após 13 dias do parto. Primeiramente acreditava-se que apenas o estímulo da sucção do teto levaria a um atraso no retorno a ciclicidade, levando a liberação de ocitocina, produção de PGF_{2α} pelo endométrio e luteólise precoce. Porém, não é apenas o estímulo da sucção que possui relação negativa com o retorno a ciclicidade, pois o estímulo visual e olfativo também estão envolvidos (Silveira et al. 1993). Ou seja, a presença física do bezerro, por afetar sinais somatossensoriais, modula o efeito supressivo da amamentação na ovulação pós-parto (Griffith & Williams, 1996), sendo esse efeito observado com maior intensidade quando as vacas amamentam seu próprio bezerro (Lamb et al. 1997).

Um dos fatores responsáveis pela ação inibitória da amamentação sobre a ciclicidade, são os peptídeos opióides endógenos (POE), sendo estes neurotransmissores atuantes no hipotálamo, inibindo a liberação de GnRH (Wolfe et al. 1991). Malven et al.

(1986) descobriram que a concentração de β -endorfina (opióide) no hipotálamo é negativamente correlacionada com a concentração de GnRH. Além disso, a concentração de mRNA para proopiomelano cortina (precursor da β -endorfina) no hipotálamo também é negativamente correlacionada com a concentração de LH e encontra-se em maior concentração em vacas amamentando (Byerley et al. 1993). Ou seja, quando o bezerro é apartado da mãe ocorre interrupção da inibição do opióide sobre a produção de LH. Griffith & Williams (1996) administraram a Naloxana, um antagonista opiáceo, após 40 dias de parição, resultando em um aumento na secreção de LH, o que evidencia a participação das β -endorfinas na secreção de LH.

A exposição das fêmeas durante o pós-parto a touros diminui o período de anestro por estimular o reinício da atividade ovariana (Fernandez et al. 1996), levando a uma maior pulsatilidade do LH. Entretanto, todo o mecanismo envolvido nesta regulação ainda não se encontra totalmente elucidado, sendo creditado o aumento na sensibilidade do hipotálamo aos feromônios (Rekwot et al. 2000). Outra possibilidade é de que o “efeito touro” atue diretamente nos ovários aumentando o número de receptores foliculares de LH (Custer et al. 1990). Em trabalho, Fernandez et al. (1996) constataram que o período entre parto e primeira manifestação estral era menor em vacas expostas constantemente ao touro após o parto do que em vacas mantidas isoladas ou expostas intermitentemente ao touro.

Outro fator envolvido na duração do anestro pós-parto é o período de involução uterina que é influenciado pela condição puerperal. Isso porque fêmeas que não apresentaram problemas puerperais como distocia, retenção de placenta, infecção uterina, cetose e hipocalcemia puerperal retomaram a atividade ovariana mais rápido do que as que apresentaram algum dos problemas citados acima (El Din Zain et al. 1995).

A duração do anestro também é influenciada pelo número de partições, sendo que com o passar dos anos e do número de partições de uma vaca a duração do mesmo tende a diminuir (Bellows et al. 1982; Vieira et al. 2005). Em vacas primíparas o período entre o parto e a concepção é maior que em multíparas (Yavas & Walton, 2000a) em razão do balanço energético negativo (BEN) ser mais pronunciado. Isto porque vacas primíparas ainda estão em crescimento e, ao mesmo tempo, devem conceber durante o período pós-parto.

2.3 Sincronização e Indução do Estro no Pós-Parto

Com o objetivo de diminuir os prejuízos ocasionados pelo prolongado período pós-parto em que a fêmea encontra-se improdutiva, muitos estudos vêm sendo realizados. As soluções encontradas envolvem manejo nutricional, práticas de desmame e tratamentos de indução hormonal.

O planejamento nutricional que leve a uma melhor condição corporal ao parto e aumento das taxas de concepção envolve desde o plantio de pastagens artificiais, adubação de pastagens naturais até a suplementação alimentar com silagem, feno e ração, por exemplo (Prado et al. 2002; Stagg et al. 1995). Entretanto apesar de ser vantajosa esta alternativa em determinadas épocas se torna inviável por fatores econômicos relacionados ao custo do produto (Kg carne) e dos insumos.

Os protocolos hormonais estão sendo utilizados há algum tempo em vacas de corte durante o anestro pós-parto, porém as taxas de prenhez são muito variáveis (Baruselli et al. 2004a; Geary et al. 2001; Kasimanickan et al. 2006; Martinez et al. 2002; Siqueira et al. 2008) dependendo da interação entre meio ambiente e características individuais. Sua função é diminuir o período para ocorrência da primeira ovulação após o parto por estimular o crescimento folicular e induzir ovulação em fêmeas que estão em anestro. Atualmente, existe um grande número de protocolos descritos na literatura tendo resultados que variam dependendo da condição sanitária e nutricional do rebanho. Ou seja, para cada propriedade existe um protocolo hormonal que se adequará melhor, devendo-se levar em consideração as condições individuais de cada rebanho, além do custo/benefício do seu uso (Moraes et al. 2008).

Dentre os hormônios utilizados no tratamento hormonal em vacas no pós-parto estão os progestágenos, o estradiol, o eCG, o FSH, a $PGF_{2\alpha}$, e o GnRH. As associações feitas com estes hormônios visam aumentar a fertilidade do estro induzido e a precisão do momento da ovulação quando a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é utilizada. No entanto, a utilização destes hormônios só foi possível através do conhecimento da dinâmica folicular que permitiu o controle racional da reprodução, possibilitando assim manipular o ciclo estral, induzir o estro pós-parto e aprimorar outras biotécnicas reprodutivas tais como a transferência de embriões (TE) e a produção *in vitro* de embriões (PIVE). Foi através do conhecimento do desenvolvimento folicular que se descobriu que vacas *Bos indicus* e *Bos taurus* se comportavam de maneira diferente quanto ao número de ondas foliculares (Bo et al. 2003; Figueiredo et al. 1997; Wolfenson et al. 2004), tamanho folicular na divergência (Castilho et al. 2006; Sartorelli et al. 2005), tamanho de folículo ovulatório (Gimenes et al. 2008; Sartori

et al. 2001), tamanho do corpo lúteo e concentração de progesterona (Figueiredo et al. 1997; Savio et al. 1988; Segerson et al. 1984).

Com relação aos hormônios, os progestágenos são de grande importância, visto que diminuem a ocorrência de ciclos curtos após a primeira ovulação e ajudam a restabelecer a ciclicidade (Cooper et al. 1991; Fike et al. 1997; Perry et al. 2004; Rutter et al. 1985; Sá Filho et al. 2009a,b). Os ciclos curtos devido à luteólise prematura são decorrentes de uma liberação precoce de $\text{PGF}_{2\alpha}$ por um número insuficiente de receptores de progesterona no endométrio (Zollers et al. 1993). Com isso, a partir do momento da exposição ao progestágeno exógeno há um aumento de receptores para progesterona no útero, impedindo então a liberação precoce de $\text{PGF}_{2\alpha}$ por inibir os receptores de ocitocina (Leung & Wathes, 2000). O uso da progesterona natural tem mostrado resultados superiores aos observados com o acetato de melengestrol no tratamento do anestro pós-parto, pois diminui a ocorrência de corpos lúteos de curta duração após indução do estro (Perry et al. 2004).

Existe no mercado uma variedade de progestágenos sintéticos, dentre eles o acetato de medroxiprogesterona (MAP). O MAP, utilizado na forma de pessário vaginal impregnado com 250 miligrama (mg) de progestágeno, é uma opção de melhor custo benefício em relação a outros dispositivos, visto que é menos oneroso e tem proporcionado taxas de prenhez satisfatórias (Bastos et al. 2004; Loguércio, 2005; Maciel et al. 2001; Ross et al. 2004; Siqueira et al. 2008).

Os resultados obtidos com os progestágenos dependem do tipo de progesterona (natural ou sintética) e do tempo do tratamento (Stevenson et al. 2003). Quando a progesterona é administrada de forma contínua, entre 5-9 dias, esta inibe a secreção de LH. A partir do momento em que a exposição a este hormônio é interrompida ocorre uma onda de LH capaz de induzir o crescimento do folículo pré-ovulatório, culminando com a ovulação (Moraes et al. 2008). Contudo, a utilização dos progestágenos além do período recomendado pode levar à formação de folículos persistentes. Isto é ocasionado quando da exposição a contínuas doses subluteais de progesterona que acabam por prolongar o período de dominância do folículo, resultando na diminuição da capacidade ovulatória e da competência meiótica. Esses folículos apresentam maior número de camadas de células da granulosa e da teca, em comparação com folículos normais, explicando em parte os altos níveis de estradiol secretados. A partir desta dominância persistente, o desenvolvimento dos folículos torna-se desorganizado e quase sempre seus oócitos são inférteis (Fortune & Rivera, 1999).

Com a finalidade de evitar a persistência folicular, os tratamentos hormonais utilizados preconizam a regressão do folículo dominante. Isto é alcançado com a associação

dos progestágenos aos derivados do estradiol 17- β que levam à regressão do folículo dominante, novo recrutamento, seleção e dominância folicular, caracterizando uma nova onda folicular com grande potencial poder fecundante (Bo et al. 2000). Os estrógenos utilizados com maior frequência são o BE, cipionato do estradiol e o valerato de estradiol. Estes hormônios levam à regressão de folículos LH-dependentes por sua interação com a progesterona e FSH dependentes por si só (Martinez et al. 2005), levando a uma nova onda folicular após 4 e/ou 3 dias de sua aplicação (Bo et al. 2000).

A associação do dispositivo intra-vaginal de P_4 com a aplicação do BE no momento de sua inserção diminui a persistência do folículo dominante em vacas ciclando e em anestro pós-parto (Rhodes et al. 2002). Quando o acetato de melengesterol (MGA), um progestágeno ativo oral, é usado, seus efeitos na dinâmica folicular variam se a vacas estiverem ciclando ou em anestro pós-parto. Nas vacas ciclando é observada a formação de folículos persistentes, ao contrário das vacas em anestro. O número de folículos recrutados e a taxa de crescimento do folículo dominante não são afetados nos animais ciclando ou em anestro, quando se faz o uso prolongado de doses baixas de MGA (Perry et al. 2002).

Hixon et al. (1981) descobriram que as concentrações plasmáticas de progesterona eram iguais ou superiores aos animais que apresentavam ciclo normal quando utilizada uma associação do Norgestomet e do valerato de estradiol em vacas em anestro. Os mesmo pesquisadores observaram também uma quantidade menor de fêmeas apresentando ciclos curtos e o aparecimento de um pico de LH após o tratamento.

Durante a sincronização de um grupo de fêmeas com progestágeno, encontram-se vacas em variados períodos do ciclo estral e com isso várias idades de CL. Ou seja, para impedir que após a retirada do progestágeno exista um CL funcional, não promovendo o estro neste caso, é feita a administração de $PGF_{2\alpha}$ (Spinosa et al. 2002). A função luteolítica desempenhada pela $PGF_{2\alpha}$, é dependente do estágio em que se encontra o CL, não induzindo a luteólise quando a idade do CL não for superior a 5 ou 6 dias (Rathbone et al. 2001). Uma alternativa para a diminuição dos gastos com esse hormônio é a aplicação de 1/4 ou 1/5 da dose intra-muscular na submucosa vulvar (Suñe et al. 1985). Experimentos em vacas de corte amamentando utilizando protocolos de indução de estro no qual se fez uso da minidose da $PGF_{2\alpha}$, obtiveram sucesso nos resultados de prenhez (acima de 50%) (Borges et al. 2008; Loguércio, 2005; Siqueira et al. 2008). Isso confirma que essa dosagem pode ser usada também em tratamentos hormonais para vacas pós-parto em associação com uma fonte de progesterona, desde que se respeitem as condições mínimas sanitárias e nutricionais dos animais.

A IATF vem sendo utilizado de modo crescente principalmente pelas dificuldades na detecção de estro. Sendo esta técnica uma alternativa em propriedades, que não dispõem de um manejo adequado e profissional experiente, para detecção de estro. Para realização da IATF é importante conhecer o momento da ovulação podendo ser usados dois hormônios indutores como o GnRH e o BE. Após o GnRH aplicado, o pico de LH ocorre por volta de 15 minutos e a IATF deve ser realizada em 16 horas (Lucy & Stevenson, 1986), enquanto que quando o BE é utilizado o pico acontece entre 16 e 30 horas, sendo a IATF realizada após 30 horas (Mburu et al. 1998).

Existem protocolos de IATF, que utilizam duas doses de GnRH com intervalo de 9 dias, sendo aplicada a PGF_{2α} no dia 7, e os animais são inseminados 16-24 horas após a segunda aplicação do GnRH (Stevenson et al. 1996). A primeira aplicação de GnRH tem como função sincronizar a emergência folicular das vacas induzindo a ovulação (Martínez et al. 1999; Vasconcelos et al. 2001), porém a taxa de ovulação desta primeira aplicação é bem variável (40-85%) (Martínez et al. 1999; Pursley et al. 1995) dependendo do período do ciclo estral que se encontra o animal (Moreira et al. 2001; Vasconcelos et al. 1999).

Após a retirada do progestágeno é importante que se tenha um folículo capaz de ovular, e para tal, o desmame temporário e o eCG têm sido usados para ajudar no crescimento e ovulação do folículo dominante. Na raça Holandesa, o folículo adquire capacidade ovulatória quando maior que 10 mm (Sartori et al. 2001), ao passo que em novilhas *Bos indicus* os folículos entre 7 e 8,4 mm já apresentam responsividade ao LH (Gimenes et al. 2008).

O desmame é utilizado com o objetivo de diminuir o efeito negativo da cria ao pé na liberação de GnRH/LH no pós-parto (Stagg et al. 1998), podendo ser temporário, parcial, total, ou definitivo. Quando bem realizado, ajuda no manejo da IA, na detecção de estro, além de potencializar o restabelecimento da ciclicidade. Dentre as técnicas utilizadas para o desmame temporário, as tabuletas nasais, que impedem o bezerro de mamar, estão entre as mais usadas. Sua maior atuação parece estar ligada a poupar energia, visto que as vacas diminuem sua produção de leite pelos bezerros estarem impossibilitados de mamar. Contudo a inibição do bloqueio neuro-endócrino à ciclicidade não é superado, pois o bezerro continua tendo acesso a região inguinal da vaca e o estímulo visual e olfatório estão ainda presentes.

Com relação ao desmame temporário onde existe a separação total do bezerro entre 48 e 120 horas ocorre um incremento na pulsatilidade do GnRH/LH, levando a uma diminuição no intervalo entre partos (Stagg et al. 1998). É importante ressaltar que este tipo

de desmame deve ser realizado dentro de um tratamento hormonal bem estabelecido, o que leva ao aumento da taxa de prenhez (Geary et al. 2001; Yelich et al. 1995), pois, se realizado isoladamente, produz resultados inconsistentes (Loguércio, 2005).

O desmame precoce, separação permanente realizada aos 60-90 dias pós-parto, leva a bons resultados de prenhes ao fim da estação de monta (Gottschall et al. 2007; Loguércio, 2005), diminui o intervalo parto-concepção e aumenta a produção de carne (Almeida et al. 2002), porém depende de fatores ambientais e, em grande parte, da oferta alimentar. Este tipo de manejo pode se tornar oneroso também dependendo do custo dos insumos para suplementação dos animais.

2.3.1 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

O eCG é o hormônio produzido pelos cálices endometriais da égua entre os dias 40-120 de gestação. Sua função primordial é estimular a manutenção do corpo lúteo primário e levar a luteinização dos folículos secundários, formando assim corpos lúteos acessórios que ajudam a elevar a concentração de progesterona até que a placenta seja a fonte principal da produção deste hormônio (Neely et al. 1983, Senger, 2003). Esta propriedade do eCG é devida à sua ação nos receptores de LH, porém o mesmo possui atividade como FSH também, estimulando a esteroidogênese e o crescimento folicular (Duffy et al. 2004; Neely et al. 1983, Senger, 2003).

Quando o eCG é aplicado antes da retirada do progestágeno e em doses baixas, o folículo dominante adquire maiores dimensões após suspensão do tratamento com progestágeno (Loguércio, 2005). Este aumento de dimensões provavelmente leva à melhora dos índices de prenhez. Em vacas Nelore foi observado que a aplicação de eCG no momento da retirada do implante auricular com Norgestomet aumentava a taxa de concepção (Silva et al. 2004) em diferentes períodos pós-parto (Ayres et al. 2007; Rodrigues et al. 2004). Sendo seu uso necessário para animais com baixa condição corporal (CC <3), provavelmente devido à alta frequência de anestros encontrada nesta categoria (Baruselli et al. 2004b).

Baruselli et al. (2004b) não encontraram diferença significativa na taxa de concepção de animais com CC maior que 3. Por ter uma meia-vida longa, o eCG pode levar a um aumento na ocorrência de ovulações múltiplas ocasionando uma maior número de partos gemelares dentro da propriedade. Esta situação é preocupante para muitos produtores

considerando que as vacas que apresentam gestação gemelar possuem maior chance de terem distocia e retenção de placenta do que vacas com gestação única (Echternkamp & Gregory, 1999; Gregory et al. 1990). Outras desvantagens da gestação gemelar em relação a simples são a diminuição do peso ao nascer dos fetos (Gregory et al. 1996), maior intervalo parto primeiro estro, aumento na mortalidade fetal e abortos (Echternkamp & Gregory, 1999a,b; Gregory et al. 1990).

Pesquisas recentes estudam a possibilidade da substituição do eCG por uma única aplicação de FSHp (Nascimento et al. 2007a,b; Santos et al. 2007a,b; Valentin et al. 2008). Os resultados encontrados são promissores, apesar da meia-vida mais curta dessa molécula, de 5 a 7 dias (eCG; Murphy & Martinuk, 1991; Siddiqui et al. 2002) e 5 horas (FSHp; Demostier et al. 1988; Fry et al. 1987; Reeves et al. 1972).

2.3.2 Hormônio folículo estimulante (FSHp)

O FSH é um hormônio glicoprotéico composto de duas subunidades. A α , que é similar a do hormônio luteinizante, e a β , que confere a especificidade a este hormônio (Farnworth, 1995). Apesar da subunidade β ser responsável pela atividade biológica do hormônio, esta não desempenha sua função na ausência da α , sendo as duas conectadas por ligação covalente tipo ponte dissulfeto. O FSH tem como função primordial promover o crescimento folicular e se encontra em baixas concentrações hipofisárias, sendo sua liberação feita de forma contínua na maior parte do tempo e pulsátil em determinadas situações, variação esta que é governada pelo GnRH (Hafez & Hafez, 2004).

Além de participar do crescimento folicular, ele está envolvido na maturação folicular e produção de estradiol. O FSH, ao se ligar a receptores de membrana das células da granulosa, ativa a proteína G pela conversão de guanosina difosfato (GDP) em guanosina trifosfato (GTP) através da subunidade α . A proteína G por sua vez estimula a adenilato ciclase a produzir adenosina monofosfato cíclico (AMPc), sendo este um segundo mensageiro que irá ativar uma quinase que por sua vez participa da fosforilação de proteínas com consequente produção do hormônio esteróide (estradiol). Em resumo, ocorre a transformação de andrógenos (androstenediona e testosterona) produzidos pelas células da teca em estrógenos (estradiol 17- β) nas células da granulosa (Cunningham, 1999; Spinosa et al. 2002).

A utilização de FSHp em vacas Nelore amamentando entre 40-55 dias pós-parto e CC entre 2,5-3 resultou em diâmetro folicular semelhante àquele relacionado ao uso de eCG e compatível com o tamanho necessário para ovulação. Sendo que a taxa de ovulação nos dois grupos foi superior a do grupo controle (Santos et al. 2007a). Neste mesmo estudo, verificou-se a melhor relação dose-resposta de FSHp-crescimento folicular sendo 10 mg/animal a melhor opção. O papel do FSHp no aumento da taxa de ovulação também foi verificado na espécie ovina quando utilizado em ovelhas em anestro, 12 horas antes da retirada do progestágeno (Knights et al. 2003).

Com relação à taxa de prenhez também não foi encontrada diferença entre a utilização do FSHp ou eCG (Nascimento et al. 2007a,b; Santos et al. 2007b; Valentim et al. 2008), estando dentro dos resultados encontrados na literatura (Colazo et al. 2004; Mialot et al. 2003; Martinez et al. 2005). O FSHp utilizado nos experimentos é purificado, sendo obtido da extração da glândula pituitária de animais domésticos (Braileanu et al. 1997), onde se tenta preservar ao máximo a pureza evitando maiores concentrações de LH. Atualmente no mercado existem dois hormônios comerciais o Folltropin-V (Syntex) com 87% de pureza e o Pluset (Calier) com 50% (Demostier et al. 1988). Estudos foram realizados em relação à segurança e eficiência do FSH altamente purificado ao FSH recombinante e nos quais ficou provada uma eficiência igual ou maior que o recombinante (Al-Inany et al. 2007).

A importância de um indutor de crescimento, como o eCG e o FSH, em aumentar a taxa de concepção no início do período pós-parto reside na possibilidade de antecipar o primeiro serviço em vacas lactantes utilizando programas de indução da ovulação para IATF (Borges et al. 2009; Sá Filho et al. 2009a).

O sucesso na utilização de um programa hormonal na obtenção de altas taxas reprodutivas não é dependente somente do uso de certos hormônios que levem a ovulação do folículo dominante. Mas também das condições em que se encontra o folículo, o que é dependente da sincronização eficaz da nova onda folicular e da aplicação dos protocolos hormonais em momentos específicos a partir desse recrutamento (Mapletoft et al. 2009; Siqueira et al. 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P. et al. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.94, p.177-188, 1992.
- AL-INANY, H.G.; ABOU-SETTA, A.M.; MANSOUR, R.T. et al. Efficacy and safety of commercially available highly purified FSH vs recombinant follicle stimulating hormone: a meta-analysis. **Fertility & Sterility**, v.88, suppl.1, p.292, 2007.
- ALMEIDA, L.S.P.; LOBATO, J.F.P.; SCHENKEL, F.S. Data de desmame e desempenho reprodutivo de vacas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.1223-1229, 2002.
- AMSTALDEN, M.; GARCIA, M.R.; STANKO, R.L. et al. Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows. **Biology of Reproduction**, v.66, p.1555-1561, 2002.
- ARMSTRONG, D.T.; XIA, P.; GANNES, DE D. et al. Differential effects of insulin-like growth factor-I and follicle stimulating hormone on proliferation and differentiation of bovine cumulus cells and granulosa cells. **Biology of Reproduction**, v.54, p.331-338, 1996.
- AYRES, H.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P. et al. Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós-parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez da vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007. p.1113.
- BARTLETT, O.P.C.; KIRK, J.; COE, P. et al. Descriptive epidemiology of anestrus in michigan holstein-friesian cattle. **Theriogenology**, v.27, p.459-476, 1987.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of homonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p. 479-486, 2004a.
- BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; MARQUES, M.O. et al. Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escore de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise retrospectiva). In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 32. (Suplemento), 2004, Barra Bonita, SP. **Anais... Barra Bonita**, SBTE, 2004b. p.228.
- BASTOS, G.M.; BRENNER, R.H.; WILLKE F.W. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, v.62, p.847-853, 2004.

BELLOWS, R.A.; SHORT, R.E.; RICHARDSON, G.V. Effects of sire, age of dam and gestation feed level on dystocia and postpartum reproduction. **Journal of Animal Science**, v.55, p.1827, 1982.

BENYEI, B.; BARROS, C.C.W. Efeito da superovulação sobre o desempenho de bovinos doadores de embrião importados de clima temperado para clima tropical nos dois primeiros anos de adaptação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.4, 2000.

BERISHA, B.; SINOWATZ, F.; SCHAMS, D. Expression and localization of fibroblastic growth factor (TGF) family members during the final growth of bovine ovarian follicles. **Molecular Reproduction and Development**, v. 67, p.162-171, 2004.

BISHOP, D.K.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J. Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. **Journal of Animal Science**, v.72, p.2703-2708, 1994.

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

BO, G.A.; BERGFELT, D.R.; BROGLIATTI, G.M. et al. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17[beta] on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen implants. **Animal Reproduction Science**, v.59, p.141-157, 2000.

BORGES, L.F.K.; FERREIRA, R.; SIQUEIRA, L.C. et al. Sistema para inseminação artificial sem observação de estro em vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.496-501, 2008.

BRAILEANU, G.T.; ALBANESE, C.; CARD, C. et al. FSH bioactivity in commercial preparations of gonadotropins. **Theriogenology**, v.49, p.1031-1037, 1998.

BURATINI Jr., J.; PINTO, M.G.L.; CASTILHO, A.C. et al. Expression and Function of Fibroblast Growth Factor 10 and Its Receptor, Fibroblast Growth Factor Receptor 2B, in Bovine Follicles. **Biology of Reproduction**, v.77, p.743-750, 2007.

BURATINI Jr., J.; TEIXEIRA, A.B.; COSTA, I.B. et al. Expression of fibroblast growth factor-8 and regulation of cognate receptors, fibroblast growth factor receptor -3c and -4c, in bovine antral follicles. **Reproduction**, v.130, p.343-350, 2005.

BYERLEY, D.J.; WHISNANT, C.S.; DEAN, R. et al. Hypothalamic Proopiomelanocortin mRNA levels in suckled or nonsuckled beef cows: a preliminary study. **Theriogenology**, v.40, p.661-668, 1993.

CASTILHO, C.; GARCIA, J.M.; RENESTO, A. et al. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.98, p.189-96, 2006.

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

COOPER, D.A.; CARVER, D.A.; VILLENEUVE, P. et al. Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.91, p.411–421, 1991.

COPELIN, J.P.; SMITH, M.F.; KEISLER, D.H. et al. Effect of active immunization of pre-partum and post-partum cows against prostaglandin F_{2α} on lifespan and progesterone secretion of short-lived corpora lutea. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.199-207, 1989.

CONNOR, H.C.; HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P. et al. Effect of dietary energy, body condition and calf removal on pituitary gonadotropins, gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and hypothalamic opioids in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v.7, p.403-411, 1990.

CROWE, M.A.; PADMANABHAN, V.; MIHM M. et al. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite major changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. **Biology of Reproduction**, v.58, p.1445-1450, 1998.

CUNNINGHAM, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999, p.353-375.

CUSTER, E.E., BERARDINELLI, B.G.; SHORT, R.E. et al. Postpartum interval of oestrus and patterns of LH and progesterone in first-calf suckled beef cows exposed to mature bulls. **Journal of Animal Science**, v.68, p.1370-1377, 1990.

DEMOSTIER, M.M.; BECKERS, J.F.; VAN DER ZWALMEN, P. et al. Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. **Theriogenology**, v.30, p.379–86, 1988.

DHILLO, W.S.; CHAUDHRI, O.B.; PATTERSON, M. et al. Kisspeptin 54 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in human males. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.90, p.6609-6615, 2005.

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

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 post-partum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, v.61, p.725-734, 2004.

DUNGAN, H.M.; CLIFTON, D.K.; STEINER, R. et al. Minireview: Kisspeptins as neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. **Endocrinology**, v.147, p.1154-1158, 2006.

ECHTERNKAMP, S.E.; GREGORY, F.E. Effect of twinning on gestation length, retained placenta and dystocia. **Journal of Animal Science**, v.77, p.39-47, 1999a.

ECHTERNKAMP, S.E.; GREGORY, F.E. Effect of twinning on postpartum reproductive performance in cattle selected for twin births. **Journal of Animal Science**, v.77, p.48-60, 1999b.

EL-DIN ZAIN, A.; NAKAO, T.; RAOUF, M.A. et al. Factors in the resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.38, p.203-214, 1995.

EVANS, A.C.; FORTUNE, J.E. Selection of dominant follicle in cattle occurs in the absence of differences in the expression of messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. **Endocrinology**, v.138, p.2963-2971, 1997.

FARNWORTH, P.G. Gonadotrophin secretion revisited. How many ways can FSH leave a gonadotroph? **Journal of Endocrinology**, v.145, p.387-395, 1995.

FERNANDEZ, D.L., BERARDINELLI, J.G.; SHORT, R.E. et al. Acute and chronic changes in luteinizing hormone secretion and postpartum interval to estrus in first-calf suckled beef cows exposed continuously or intermittently to mature bulls. **Journal of Animal Science**, v.74, p.1098-1103, 1996.

FERREIRA, R.; GASPERIN, B.G.; BOHRER, R.C. et al. The role of angiotensin II in bovine follicular growth. **Biology of Reproduction**, v.78, p.222-222, 2009.

FERREIRA, R.; OLIVEIRA, J.F.; FERNANDES, R. et al. The role of angiotensin II in the early stages of bovine ovulation. **Reproduction**, v.134, p.713 - 719, 2007.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in nelore breed cattle. **Theriogenology**, v.47, 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, p.2009-2015, 1997.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M. Folículo dominante persistente em bovinos: aspectos básicos e aplicados. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v. 27, p.22-34, 1999.

FRY, R.C.; CAHILL, L.P.; CUMMINGS, J.T. et al. The half-life of follicle-stimulating hormone in ovary-intact and ovariectomized Booroola and control Merino ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.81, p.611-615, 1987.

GALINA, C.S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.465-470, 1996.

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, p.1-4, 2001.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* capacity. **Theriogenology**, v.69, p.852-858, 2008.

GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A. et al. Follicle Selection in Cattle: Role of Luteinizing Hormone. **Biology of Reproduction**, v.64, p.197-205, 2001.

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, p.223-230, 1989.

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

GIOMETTI, I.C.; BERTAGNOLLI, A.C.; ORNES, R.C. et al. Angiotensin II reverses the inhibitory action produced by theca cells on bovine oocyte nuclear maturation. **Theriogenology**, v. 63, n. 4, 1014-1025, 2005.

GOLDMAN, B.D. Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanism of photoperiodic time measurement. **Journal of Biological Rhythms**, v.16, p.283-301, 2001.

GOTTSCH, M.L.; CUNNINGHAM, M.J.; SMITH, J.T. et al. A role for Kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. **Endocrinology**, v.145, p.4073-4077, 2004.

GOTTSCHALL, C.S.; FERREIRA, E.T.; CANELLAS, L. et al. The reproductive performance of beef cows of different ages with calves weaned at three or seven months. **Animal Reproduction**, v.4, p.42-45, 2007.

GREGORY, F.E.; ECHTERNKAMP, S.E.; CUNDIFF, L.G. Effects of twinning on dystocia, calf survival, calf growth, carcass traits and cow productivity. **Journal of Animal Science**, v.74, 1223-1233, 1996.

GREGORY, F.E.; ECHTERNKAMP, S.E.; DICKERSON, G.E. Twinning in cattle III: Effects of twinning on dystocia, reproductive traits, calf survival, calf growth and cow productivity. **Journal of Animal Science**, v.68, p.3133-3144, 1990.

GRIFFITH, M.K.; WILLIAMS, G.L. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. **Biology of Reproduction**, v.54, p.761-768, 1996.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7.ed. São Paulo: Manole Ltda, 2004, p.33-82.

HIXON, D.L.; KESLER, J.; TROXEL, T.R. et al. Reproductive hormone secretions and first service conception rate subsequent to ovulation control with Synchron-Mate B. **Theriogenology**, v.16, p.2, 1981.

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

IRELAND, J.J. Control of follicular growth and development. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.34, p.39-54, 1987.

KANDA, S.; AKAZOME, Y.; MATSUNAGA, T. et al. Identification of Kiss-1 product kisspeptin and steroid-sensitive sexually dimorphic kisspeptin neurons in Medaka (*Oryzias latipes*). **Endocrinology**, v.149, p.2467-2476, 2008.

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, p.166-172, 2006.

KAUFFMAN, A.S.; GOTTSCH, M.L.; ROA, J. et al. Sexual differentiation of Kiss1 gene expression in the brain of the rat. **Endocrinology**, v.148, p.1774-1783, 2007.

KNIGHTS, M.; BAPTISTE, Q.S.; DIXON, A.B. et al. Effects of dosage of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewes during the anestrous season. **Small Ruminant Research**, v.50, p.1-9, 2003.

KRIEGSFELD, L.J.; MEI, D.F.; BENTLEY, G.E. et al. Identification and characterization of a gonadotropin-inhibitory system in the brains of mammals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, p.2410-2415, 2006.

LAMB, G.C.; LYNCH, J.M.; GRIEGER, D.M. et al. Ad libitum suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cow's own calf prolongs postpartum anovulation. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2762-2769, 1997.

LAPPATO, R.; PALLAIS, J.C.; ZHANG, D. et al. Kiss1 ^{-/-} mice exhibit more variable hypogonadism than GPR54 ^{-/-} mice. **Endocrinology**, v.148, p.4927-4936, 2007.

LEUNG, S.T.; WATHES, D.C. Oestradiol regulation of oxytocin receptor expression in cyclic bovine endometrium. **Reproduction**, v.119, p.287-292, 2000.

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

LUCY, M.C.; STEVENSON, J.S. Gonadotropin-releasing hormone at estrus: luteinizing hormone, estradiol, and progesterone during the peri-estrus and postinsemination periods in dairy cattle. **Biology of Reproduction**, v.35, p.300-311, 1986.

MACIEL, M.N.; NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D. et al. Programa hormonal associado ao desmame temporário, na indução de ovulação em vacas de corte durante o pós-parto. **Ciência Rural**, v.31, n.3, p.473-478, 2001.

MACIEL, M.N.; ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M. et al. Leptin Prevents Fasting-Mediated Reductions in Pulsatile Secretion of Luteinizing Hormone and Enhances Its Gonadotropin-Releasing Hormone-Mediated Release in Heifers. **Biology of Reproduction**, v.70, p.229-235, 2004.

MADUREIRA, E.H.; PIMENTEL, J.R.V. IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, Goiânia, GO. **Anais: Palestras**, 2005.

MAFFEI, M.; HALAAS, J.; RAVUSSIN, E. et al. Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. **Nature**, v.1, p.1155-1161, 1995.

MALVEN, P.V.; PARFET, F.R.; GREGG, D.W. et al. Relationship among concentrations of four opioid neuropeptides and luteinizing hormone releasing hormone in neural tissue of beef cows following early weaning. **Journal of Animal Science**, v.62, p.723-733, 1986.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrus cycle in cow. **Animal Reproduction of Science**, v.64, p.171-180, 2000.

MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. **Animal Reproduction**, v.6, n.1, p.114-124, 2009.

MARTÍNEZ, M.F.; ADAMS, G.P.; BERGFELT, D.R. et al. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v.57, p.23-33, 1999.

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, p.1049-1059, 2002.

MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BO, G.A. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.

MATSUI, H.; TAKATSU, Y.; MATSUMOTO, H. et al. Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 320, p.383-388, 2004.

MBURU, J.N.; EINARSSON, S.; KINDAHL, H. et al. Effects of post-ovulatory food deprivation on oviductal sperm concentration, embryo development and hormonal profiles in the pig. **Animal Reproduction Science**, v.52, p.221-234, 1998.

MEIDAN, R.; GIRSH, E.; BLUM, O. et al. *In vitro* differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal-like cells: morphological and functional characteristics. **Biology of Reproduction**, v.43, p.913-921, 1990.

MESSAGER, S.; CHATZIDAKI, E.E.; MA, D. et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.102, p.1761-1766, 2005.

MIALOT, J.P.; CONSTANT, F.; DEZAUX, P. et al. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH+PGF2[alpha]+GnRH and PRID+PGF2[alpha]+eCG. **Theriogenology**, v.60, p. 319-330, 2003.

MORAES, J.C.F.; DE SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e ovulação em ruminantes. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. 2.ed. São Paulo: Roca, 2008, p.33-56.

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, p.1646–59, 2001.

MOUNZIH, K.; LU, R.; CHEHAB, F.F. Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. **Endocrinology**, v.138, p.1190-1193, 1997.

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

NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A.; DIAS, M. et al. Taxas de prenhez com o uso do FSH-p na sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007a, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007a. p.1135.

NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A.; DIAS, M. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007b, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007b. p.1134.

NAVARRO, V.M.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, M.; CASTELLANO, J.M. et al. Effects of kiss-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on the follicle-stimulating hormone secretion in the rat. **Endocrinology**, v.146, p.1689-1697, 2005.

NEELY, D.P.; LIU, I.K.M.; HILLMAN, R.B. **Equine Reproduction**. New Jersey: Hoffmann-La Roche Inc, 1983, p.24, 64.

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, p.99-105, 1999.

OHKURA, S.; UENOYAMA, Y.; YAMADA, S. et al. Physiological role of metastin/kisspeptin in regulating gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion in female rats. **Peptides**, 2008. Article in press.

PASCHAL, J.C.; SANDERS, J.O.; KERR, J.L. Calving and weaning characteristics of Angus-, Gray Brahman-, Gir-, Indu-Brazil-, Nelore-, and Red Brahman-sired F1 calves. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2395-2402, 1991.

PERRY, R.C.; CORAH, L.R.; KIRACOFÉ, G.H. et al. Endocrine changes and ultrasonography of ovaries in suckled beef cows during resumption of postpartum estrous cycles. **Journal of Animal Science**, v.69, p.2548–2555, 1991.

PERRY, G.A.; KOJIMA, F.N.; SALFEN, B.E. et al. Effect of an orally active progestin on follicular dynamics in cycling and anestrous postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1932-1938, 2002.

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

PIMENTEL, C.A. **Curso de Ginecologia Bovina**, 2002, Tapes.

PINTO ANDRADE, L.; RHIND, S.M.; WRIGHT, I.A. et al. Effects of infusion of GnRH pulses and level of body condition on ovarian function in postpartum beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.40, p.177-192, 1995.

PLANT, T.M.; RAMASWAMY, S.; DIPIETRO, M.J. Repetitive activation of hypothalamic GPR54 with intravenous pulses of kisspeptin in the juvenile monkey (*Macaca mulatta*) elicits a sustain train of GnRH discharges. **Endocrinology**, v.147, p.1007-1013, 2006.

PORTELA, V.V.; GONÇALVES, P.B.D.; FREITAS, V.J.F. et al. A novel role for angiotensin-II in the regulation of protease-nexin-I expression and secretion in bovine follicles. In 2006; **39th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction**. Abstract 452

PRADO, T.M.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J. et al. Influence of exogenous gonadotropin-releasing hormone on ovarian function in beef cows after short- and long-term nutritionally induced anovulation. **Journal of Animal Science**, v.80, p.3268-3276, 2002.

PURSLEY, J.R.; MEE, O.M.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. **Theriogenology**, v.44, p.915-23, 1995.

RAMIREZ-GODINEZ, J.A.; KIRACOFÉ, G.H.; CARNAHAN, D.L. et al. Evidence for ovulation and fertilization in beef cows with short estrous cycles. **Theriogenology**, v.17, p.409-414, 1982.

RATHBONE, M.J.; KINDER, J.E.; FIKE, K. et al. Recent advances in bovine reproductive endocrinology and physiology and their impact on drug delivery system design for the control of the estrus cycle in cattle. **Advance Drug Delivery Reviews**, v.50, p.277-320, 2001.

REEVES, J.J.; ARIMURA, A.; SCHALLY, A.V. et al. Effects of Synthetic Luteinizing Hormone-Releasing Hormone/Follicle Stimulating Hormone-Releasing Hormone (LH-RH/FSH-RH) on Serum LH, Serum FSH and Ovulation in Anestrous Ewes. **Journal of Animal Science**, v.35, p.84-89, 1972.

REKWOT, P.I.; OGWU, D.; OYEDIPE, E.O. Influence of bull biostimulation, season and parity on resumption of ovarian activity of zebu (*Bos indicus*) cattle following parturition. **Animal Reproduction Science**, v.63, p.1-11, 2000.

REVEL, F.G. et al. Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamsters. **Current Biology**, v.16, p.1730-1735, 2006.

RIVERA, G.M. et al. A potential role for insulin-like factor binding protein-4 proteolysis in the establishment of ovarian follicular dominance in cattle. **Biology of Reproduction**, v.65, p.102-111, 2001.

RHODES, F.M.; BURKE, C.R.; CLARK, B.A. et al. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrus cycles. **Animal Reproduction Science**, v.69, p.139-150, 2002.

RICHARDS, M.W.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J. et al. Nutritional anestrus in beef cows: effects of body condition and ovariectomy on serum luteinizing hormone and insulin-like growth factor- I. **Biology of Reproduction**, v.44, p.961-966, 1991.

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. In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 32. (Suplemento), 2004, Barra Bonita, SP. **Anais... Barra Bonita**, SBTE, 2004. p.220.

ROSS, P.J.; ALLER, J.F.; CALLEJAS, S.S. et al. Estradiol benzoate given 0 or 24h after the end of progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.62, p.265-273, 2004.

RUTTER, L.M.; CARRUTHERS, T.D.; MANNS J.G. The postpartum induced corpus luteum: functional differences from that of cycling cows and the effects of progesterone pretreatment. **Biology of Reproduction**, v.33, p.560-568, 1985.

RYAN, D.P.; SPOON, R.A.; GRIFFITH, M.K. et al. Ovarian follicular recruitment, granulosa cell steroidogenic potential and growth hormone/insulin-like growth factor-I relationships in suckled beef cows consuming high lipid diets: Effects of graded differences in body condition maintained during the puerperium. **Domestic Animal Endocrinology**, v.11, p.161-174, 1994. (Resumo)

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

SÁ FILHO, O.G.; THATCHER, W.W.; VASCONCELOS, J.L.M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v.112, p.95-106, 2009b.

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. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007a, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007a. p.1152.

SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; VALENTIN, R. et al. Taxa de prenhez a IATF de vacas Zebuínas em anestro tratadas com dose única de FSHp (Folltropin®). In: XXI REUNIÃO

ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007b, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007b. p.1151.

SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P. et al. Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P. et al. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction of Fertility**, v.83, p.663-671, 1988.

SCHNEIDER, J.E. Energy balance and reproduction. **Physiology and Behaviour**, v.81, p.289-317, 2004.

SEGERSON, E.C.; HANSEN, T.R.; LIBBY, D.W. et al. Ovarian and Uterine Morphology and Function in Angus and Brahman Cows. **Journal of Animal Science**, v.59, p.1026-1046, 1984.

SEMINARA, S.B.; MESSENGER, S.; CHATZIDAKI, E.E. et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. **New England Journal of Medicine**, v.349, p.1614-1627, 2003.

SENGER, P.L. Pathways to Pregnancy and Parturition. 2.ed. Washington: Current Conceptions Inc, 2003, p.199-203, 312-314.

SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B. et al. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.799-816, 1990.

SHAHAB, M.; MASTRONARDI, C.; SEMINARA, C.B. et al. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v.102, p.2129-2134, 2005.

SIDDIQUI, M.A.; SHAMSUDDIN, M.; BHUIYAN, M.M. et al. Effect of feeding and body condition score on multiple ovulation and embryo production in zebu cows. **Reproduction of Domestic Animals**, v.37, p.37-41, 2002.

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. In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 32. (Suplemento), 2004, Barra Bonita, SP. **Anais... Barra Bonita**, SBTE, 2004. p.221.

SILVEIRA, P.A.; SPOON, R.A.; RYAN D.P. et al. Evidence for maternal behavior as a requisite link in suckling-mediated anovulation in cows. **Biology of Reproduction**, v.49, p.1338-1346, 1993.

SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.C.; LOGUÉRCIO, R. da S. et al. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.411-415, 2008.

SMITH, J.T.; ACOHIDO, B.V.; CLIFTON, D.K. et al. KiSS-1 neurones are direct targets for leptin in the ob/ob mouse. **Journal of Neuroendocrinology**, v.18, p.298–303, 2006.

SMITH, J.T.; CLAY, C.M.; CARATY, A. et al. KiSS-1 messenger ribonucleic acid expression in the hypothalamus of the ewe is regulated by sex steroids and season. **Endocrinology**, v.148, p.1150–1157, 2007.

SPICER, L.J.; CHAMBERLAIN, C.S.; MACIEL, S.M. Influence of gonadotropins on insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I)- induced steroid production by bovine granulosa cells. **Domestic Animal Endocrinology**, v.22, p.237-254, 2002.

SPICER, L.J.; STEWART, R.E. Interactions among basic fibroblastic growth factor, epidermal growth factor, insulin, and insulin-like growth factor-I (IGF-I) on cell numbers and steroidogenesis of bovine thecal cells: role of IGF-I receptors. **Biology of Reproduction**, v.54, p.255-263, 1996.

SPINOSA, H.S.; GÓRNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, p. 15-19; 301-332.

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

STAGG, K.; SPICER, L.J.; SREENAN, J.M. et al. Effect of Calf Isolation on Follicular Wave Dynamics, Gonadotropin and Metabolic Hormone Changes, and Interval to First Ovulation in Beef Cows Fed Either of Two Energy Levels Postpartum. **Biology of Reproduction**, v.59, p.777-783, 1998.

STEFANELLO, J.R.; BARRETA, M.H.; PORCIUNCULA, P.M. et al. Effect of Angiotensin II with follicle cells and insulin-like growth factor-I or insulin on bovine oocyte maturation and embryo development. **Theriogenology**, v.66, p.2068-2076, 2006.

STEVENSON, J.S.; KOBAYASHI, Y.; SHIPKA, M.P. et al. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F₂ α . **Journal of Dairy Science**, v.79, p.402–410, 1996.

STEVENSON, J.S.; LAMB, J.C.; JOHNSON, S.K. et al. Supplemental norgestomet, progesterone or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations. **Journal of Animal Science**, v.81, p.571-586, 2003.

STRAUCH, T.A.; NEUENDORFF, D.A.; BROWN, C.G. et al. Effects of lasalocid on circulating concentrations of leptin and insulin-like growth factor-I and reproductive performance of postpartum Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1363-1370, 2003.

SUÑE, J.F.V.; MORAES, J.C.F.; GONÇALVES, P.B.D. et al. Inseminação em gado de corte durante dez dias utilizando uma minidose de prostaglandina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.9, n.3, p.141-145, 1985.

TROXEL, T.R.; CRUZ, L.C.; OTT, R.S. et al. Norgestomet and gonadotropin-releasing hormone enhance corpus luteum function and fertility of post partum suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2579-2585, 1993.

VALENTIN, 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. In: XXII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 36. (Suplemento 2), 2008, Guarujá, SP. **Anais... Guarujá**, SBTE, 2008. p.597.

VASCONCELOS, J.L.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N. et al. Reduction in diameter of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal diameter and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, p.307-14, 2001.

VASCONCELOS, J.L.M.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J.M. et al. Synchronization rate, diameter of the ovulatory follicle, and conception rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, p.1067-78, 1999.

VIEIRA, A.; LOBATO, J.F.P.; JUNIOR, R.A.A.T. et al. Fatores Determinantes do Desempenho Reprodutivo de Vacas Nelore na Região dos Cerrados do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2408-2416, 2005.

WEBB, R.; GARNSWORTHY, P.C.; CAMPBELL, B.K. et al. Intra-ovarian regulation of follicular development and oocyte competence in farm animals. **Theriogenology**, v.68, p.S22-S29, 2007.

WEBB, R.; NICHOLAS, B.; GONG, J.G. et al. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. **Reproduction**, v.61, p.71-90, 2003.

WERTH, L.A.; WHITTIER, J.C.; AZZAM, S.M. et al. Relationship between circulating progesterone and conception at the first postpartum estrus in young primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, v.74, p.616-619, 1996.

WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal Dairy of Science**, v.65, p.495-501, 1982.

WILLIAMS, G.L.; AMSTALDEN, M.; GARCIA, M.R. et al. Leptin and its role in the central regulation of reproduction in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.339-349, 2002.

WOLFE, M.W.; STUMPF, T.T.; ROBERSON, M.S. et al. Opioid and 17[beta]-estradiol regulation of LH and FSH secretion during sexual maturation in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v.8, p.491-498, 1991.

WOLFENSON, D.; INBAR, G.; ROTH, Z. et al. Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropins in lactating cows and nulliparous heifers. **Theriogenology**, v.62, p.1042-1055, 2004.

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

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.1-23, 2000b.

YELICH, J.V.; HOLLAND, M.D.; SCHUTZ, D.N. et al. Synchronization of estrus in suckled postpartum beef cows with melengestrol acetate, 48-h calf removal and PGF₂. **Theriogenology**, v.43, p.401–410, 1995.

ZIEBA, D.A.; AMSTALDEN, M.; MORTON, S. et al. Regulatory Roles of Leptin at the Hypothalamic-Hypophyseal Axis Before and After Sexual Maturation in Cattle. **Biology of Reproduction**, v.71, p.804-812, 2004.

ZOLLERS, W.G.; GARVERICK, H.A.; SMITH M.F. et al. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **Reproduction**, v.97, p.329-337, 1993.

CAPÍTULO 2

Influência do eCG e FSHp no desenvolvimento folicular, tamanho luteal, concentração de P₄ e índice de prenhez após IATF em vacas de corte lactantes

Tortorella, R.D.; Barreta, M.H.; Bohrer, R.C.; Ilha, G.F.; Siqueira, L.C.; Santos, J.T.; Neto, O.A.; Gonçalves, P.B.D.; Neves, J.P.

Trabalho a ser enviado para publicação

1 RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar a influência da aplicação do hormônio folículo estimulante (FSHp) e da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em um programa hormonal de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) utilizado em vacas lactantes. Para todos os experimentos foram utilizadas vacas cruza *Bos taurus* x *Bos indicus*, amamentando, 40-60 dias pós-parto e com condição corporal média 3 (1- muito magra e 5- muito gorda). Foi utilizado um protocolo hormonal de IATF base para todos os experimentos, que consistia na aplicação de benzoato de estradiol (2 mg, IM) e colocação de pessário vaginal com acetato de medroxiprogesterona (250 mg MAP; Dia 0). No dia 6 foi aplicado cloprostenol sódico (0,265 mg, IM), no dia 8 o pessário vaginal foi retirado e 24 horas após os animais recebiam GnRH (100 µg, IM), sendo inseminados 16 horas após. No experimento 1, os animais foram distribuídos em 4 grupos: Controle (n=6); eCG6 (n=6) foram aplicadas 400 UI de eCG IM no dia 6; FSH10 (n=5) 10 mg de FSHp IM no dia 6; FSH20 (n=5) 20 mg de FSHp IM no dia 6. Não houve diferença estatística entre os grupos quanto a tamanho dos folículos dominantes ($P>0,05$). No experimento 2, foram formados 5 grupos experimentais: Controle (n=4); eCG6 (n=7) foram aplicadas 400 UI de eCG IM no dia 6; FSH6 (n=6) 10 mg de FSHp IM no dia 6; eCG8 (n=6) 400UI de eCG no dia 8 e FSH8 (n=6) 10 mg de FSHp IM no dia 8. O tamanho médio dos folículos dominantes no dia 9 não diferiu, porém quando se analisa os dados das duas dinâmicas em conjunto existe diferença entre o grupo eCG6 (10,59±0,54 mm; n=12) para o Controle (9,51±0,55 mm; n=10) e FSH6 (9,12±0,52 mm; n=12) ($P>0,05$). O volume luteal no dia 5 após ovulação nos grupos Controle (n=2), eCG6 (n=6), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3) foi: 797,95±62,33 mm³, 2.059,63±247,79 mm³, 1.492,24±655,73 mm³ e 1.615,74±129,01 mm³, respectivamente. O grupo eCG6 foi superior ao Controle ($P<0,05$), porém não houve diferença entre os demais grupos. Nos dias 10 e 15 os corpos lúteos das vacas dos grupos Controle e FSH6 sofreram luteólise e os grupos eCG6 e eCG8 não diferiram ($P>0,05$). A taxa de prenhez entre os grupos eCG6 (23/96=23,96%) e eCG8 (14/103=13,59%)

tendeu a diferir ($P=0,06$), porém o volume luteal no dia 10 após ovulação e taxa de ovulação não diferiram ($P>0,05$). A concentração de P_4 foi maior no grupo eCG6 ($9,38\pm 1,01$ ng/ml; $n=13$) em relação ao eCG8 ($5,39\pm 0,61$ ng/ml; $n=13$) no dia 10 pós-ovulação. Os resultados mostram que o folículo necessita de um estímulo hormonal para o crescimento, com ação nos receptores de FSH e LH, antes da retirada da fonte de progesterona. Em conclusão, nossos resultados evidenciam que a substituição do eCG pelo FSHp em vacas com cria cruzada *Bos taurus* x *Bos indicus* não é benéfica para aumentar os índices de prenhez do rebanho.

Palavras-chave: pós-parto, eCG, FSHp, dinâmica folicular, corpo lúteo e IATF.

2 ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the influence of Follicle Stimulating Hormone (FSHp) and Equine Chorionic Gonadotropin (eCG) using a Timed Artificial Insemination (TAI) in suckled beef cows. Only suckling cows (*Bos taurus* x *Bos indicus*) with a body condition (3) score on a scale of 1–5 (1 very thin; 5 very fat) were used in this study. Cows were treated with estradiol benzoate (2 mg, IM) and a vaginal device containing 250 mg of medroxyprogesterone acetate (MPA) on the first day of treatment. On day six, cows were treated with cloprostenol (0.265 mg, IM). The devices were removed on day eight and cows were treated with Gonadotrophin Release Hormone (GnRH; 100 µg, IM) 24 h after (day nine). All cows were inseminated after 16 h of GnRH administration. In experiment I, cows were randomly allocated in four treated groups as follow: Control (n=6), eCG6 (400 IU eCG on day six; n=6), FSH10 (10 mg FSHp on day six; n=5), and FSH20 (20 mg FSHp on day six; n=5). The average size of the dominant follicle on day nine did not differ ($P>0.05$). In experiment II, cows were randomly allocated in five treated groups as follow: Control (n=4); eCG6 (400 IU eCG on day six; n=6), FSH6 (10mg FSHp on day six; n=6), eCG8 (400UI eCG on day eight, n=6), and FSH8 (10mg FSHp on day eight; n=6). The average size of the dominant follicle on day nine did not differ. Both experiments showed no statistic differences. However, we observed a significative difference between the eCG6 group (10.59 ± 0.54 , n=12) compared to Control (9.51 ± 0.55 , n=10) and FSH6 (9.12 ± 0.52 , n=12) when data from both experiments were combined ($P<0.05$). In experiment II, we also observed the influences of the follicular growth and the day of hormone administration on the luteal volume on days 5, 10 and 15 after ovulation. On day five, the mean±S.E.M. luteal volume were: Control (797.95 ± 62.33 mm³, n=2), eCG6 (2059.63 ± 247.79 mm³, n=6), FSH6 (1492.24 ± 655.73 mm³, n=2), and eCG8 (1615.74 ± 129.01 mm³, n=3). The only difference was observed between

Control and eCG6 treated groups ($P < 0.05$) due to luteolysis occurred after 5 days. On days 10 and 15 after ovulation no difference was observed. After experiment I and II, we decided to use the eCG6 and eCG8 protocols to evaluate the pregnancy rates of 199 cows. Pregnancy rates showed a tendency to be different ($P = 0.06$) when compared the eCG6 (23/96, 23.96%) to eCG8 (14/103, 13.59%) treated cows, although there were no difference on ovulatory rate and CL volume on day 10. Serum P_4 differ between eCG6 (9.38 ± 1.01 ng/ml; $n = 13$) and eCG8 (5.39 ± 0.61 ng/ml; $n = 13$) on day 10 post ovulation ($P < 0.05$). Our results suggest that the follicle require a hormonal stimulus to its growth on FSHr and LHr before progestagens withdrawal. In conclusion, we provide evidence that the uses of FSHp instead of eCG in suckled beef cows in not beneficial to improve pregnancy rates.

Key-words: Postpartum, eCG, FSHp, follicular dynamic, corpus luteum and TAI.

3 INTRODUÇÃO

O baixo uso de biotecnologias no rebanho geral e a forma extrativista da pecuária brasileira são alguns dos responsáveis pelos atuais baixos índices produtivos (Pires et al. 2004). Neste contexto, a reprodução assume papel fundamental visto que os baixos índices reprodutivos afetam diretamente a eficiência e rentabilidade do sistema de produção, tendo a infertilidade no prolongado período pós-parto grande papel nas taxas reprodutivas. No intervalo entre partos desejável de 12 meses, a fêmea deve dar origem a uma cria por ano (Madureira & Pimentel, 2005), porém sob as condições da pecuária brasileira, o intervalo médio entre partos varia de 14 a 21 meses (Vieira et al. 2005; MacManus et al. 2002; Zimmer & Euclides Filho, 1997), o que leva a um grande número de animais improdutivos no rebanho (Neves et al. 1999).

Esta situação pode ser alterada com o uso de biotecnologias como a indução e sincronização de estros para vacas de corte amamentando, o que resulta em maior número de animais ciclando em menor tempo. Dentre os programas hormonais, aqueles que fazem uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) são mais vantajosos, pois a detecção de estro está sujeita a falhas prejudicando assim os índices reprodutivos (Galina et al. 1996). Contudo, estes protocolos hormonais apresentam grande variação de resultados de prenhez oscilando entre 25 e 70% (Geary et al. 2001; Kasimanickan et al. 2006; Martinez et al. 2002; Siqueira et al. 2008) com média de 50% (Colazo et al. 2004; Martinez et al. 2002; Martinez et al. 2005). Dentre as principais causas, estão a condição nutricional e ambiental a que o animal está submetido, o número de animais ciclando no período e a combinação hormonal utilizada.

Uma alternativa de associação hormonal para sincronização e indução do estro utiliza o acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 8 dias e uma aplicação de benzoato de estradiol (BE) no dia zero, uma aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG) e cloprostenol sódico (análogo de prostaglandina $F_{2\alpha}$) no sexto dia, e do hormônio liberador

de gonadotrofinas (GnRH) no nono dia, inseminando os animais 16 horas após a aplicação deste último. No referido estudo, a taxa de prenhez foi de 52,3% (Borges et al. 2008) considerada aceitável se comparada aos demais trabalhos. Entretanto, novas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de aperfeiçoar os protocolos e dentre as alternativas propostas, a substituição do eCG pelo hormônio folículo estimulante (FSH) como indutor do crescimento folicular final tem sido vista com interesse por produtores (Nascimento et al. 2007a,b; Santos et al. 2007a,b).

A taxa de ovulação folicular é dependente do seu tamanho quando aplicado o indutor da ovulação. Utilizando-se a ultrassonografia, pode-se investigar o padrão de crescimento folicular e com isso verificou-se que nas raças *Bos taurus* o folículo adquire capacidade ovulatória a partir de 10 mm (Sartori et al. 2001), enquanto que nas raças *Bos indicus* os folículos a partir de 8,5 mm já respondem a um estímulo de LH (Gimenes et al. 2008). Neste contexto, o eCG vem sendo utilizado com sucesso como indutor do crescimento folicular final (Baruselli et al. 2004; Duffy et al. 2004).

Nos bovinos o eCG tem a capacidade de se ligar tanto em receptores de LH como de FSH, estimulando a esteroidogênese e levando a um maior diâmetro folicular (Duffy et al. 2004). Entretanto, por apresentar um alto peso molecular quando utilizado de maneira repetitiva, pode levar à formação de anticorpos anti-eCG (Bényei & Barros, 2000) e em determinadas condições aumenta o número de partos gemelares. Com isso o FSH torna-se uma opção ao seu uso, pois leva a menor reação imunológica, tem aceitação em vários países, maior disponibilidade comercial e preço compatível com o do eCG. O FSH tem papel fundamental no desenvolvimento folicular, atuando na maturação folicular e esteroidogênese (Webb et al. 2003). Na indústria já se encontra fármacos com alto grau de pureza que levam à segurança em sua utilização (Demostier et al. 1988) e alguns trabalhos relatam a eficiência de seu uso em protocolos de IATF (Nascimento et al. 2007a,b; Santos et al. 2007a,b).

O trabalho tem por objetivos: (1) avaliar o efeito de duas doses de FSHp (10mg e 20 mg) no crescimento folicular e taxa de ovulação em vacas de corte lactantes; (2) verificar o melhor dia de aplicação do eCG e do FSHp que leve a um maior diâmetro do folículo pré-ovulatório, maior taxa de ovulação, volume luteal e concentração de progesterona; (3) avaliar a taxa de prenhez utilizando os indutores de crescimento folicular.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Experimento 1

Foram selecionadas 28 fêmeas (*Bos taurus* x *Bos indicus*), amamentando, múltiparas, entre 40-60 dias pós-parto, e com condição corporal média 3 (1- muito magra e 5- muito gorda; Wildman et al. 1982). O experimento foi realizado na Fazenda do Salso (30° 3' 53.60" S 55° 07' 00.55" O), no município de Rosário do Sul, RS, Brasil.

Os animais receberam um pessário vaginal contendo 250 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) e uma injeção intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) no dia 0. No dia 6, foram aplicadas 0,265 mg de Cloprostenol Sódico (PGF_{2α}, Ciosin[®], Intervet Schering, Brasil) via IM e os 4 grupos formados. No grupo eCG6 (n=7) foram aplicadas 400 UI de eCG (Folligon[®] 5000 UI, Intervet Schering, Brasil) por via IM, FSH10 (n=7) 10 mg de FSH (Folltropin[®], Tecnopec, Brasil) via IM, FSH20 (n=7) 20 mg de FSH via IM e no grupo controle (n=7) não foi aplicado nenhum indutor do crescimento folicular. No dia 8, o pessário vaginal foi retirado e após 24 horas administrado 100 µg de gonadorelina (GnRH, Profertil[®], Tortuga, Brasil) IM (Figura 2.1).

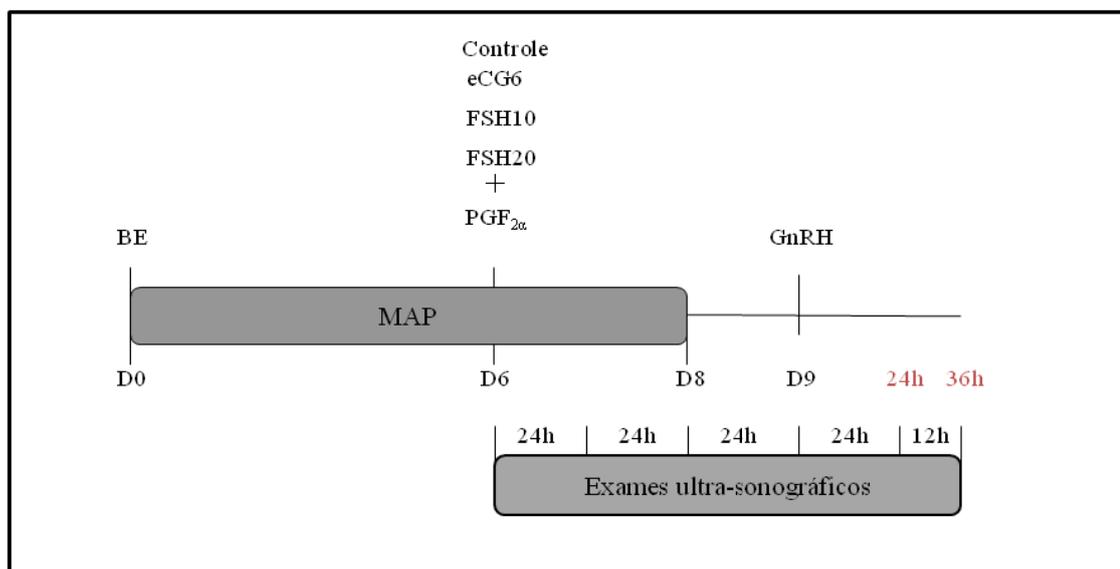


Figura 2.1 - Delineamento experimental 1. Dia 0: Colocação do pessário vaginal (250 mg de MAP) e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol IM; Dia 6: Aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol Sódico via IM; Dia 8: Retirada do pessário; 24 horas após: Aplicação de 100 µg de GnRH IM. No dia 6 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG6 (n=7), 10 mg de FSH (n=7), 20 mg de FSH (n=7) ou não foi aplicado nenhum hormônio (n=7).

O crescimento folicular foi acompanhado com o auxílio de um aparelho de ultrassonografia, Aquilla Vet, equipado com um transdutor transretal de 8 MHz. A partir do dia 6, foram realizados exames a cada 24 horas e após aplicação do GnRH (dia 9), 24 e 36 horas com o intuito de verificar a ocorrência da ovulação. Foi considerado ovulação o desaparecimento do maior folículo observado no exame anterior e a constatação da formação de um corpo hemorrágico em seu local.

4.2 Experimento 2

Foram utilizadas 40 vacas de corte (*Bos taurus* x *Bos indicus*), amamentando, múltiparas, entre 40-60 dias pós-parto, e com condição corporal média 3 (1- muito magra e 5- muito gorda). O Experimento foi realizado na Fazenda do Sossego (29°59'04.41"S 54°40'47.00"O), no município de Cacequi, RS, Brasil.

Os animais receberam um pessário vaginal contendo 250 mg de MAP e 2 mg de BE (IM) no dia 0. No dia 6, foram aplicadas 0,265 mg de PGF_{2α} IM e os 5 grupos experimentais formados. No dia 6 o grupo eCG6 (n=8) recebeu 400 UI de eCG IM e no grupo

FSH6 (n=8) foram aplicadas 10 mg de FSH IM. No dia 8 no grupo eCG8 (n=8), foram aplicadas 400 UI de eCG, no grupo FSH8 (n=8) 10 mg de FSH IM e no grupo controle (n=8) não foi aplicado nenhum indutor do crescimento folicular. No dia 8, o pessário vaginal foi retirado e após 24 horas administrou-se uma injeção IM de 100 µg de GnRH (Figura 2.2).

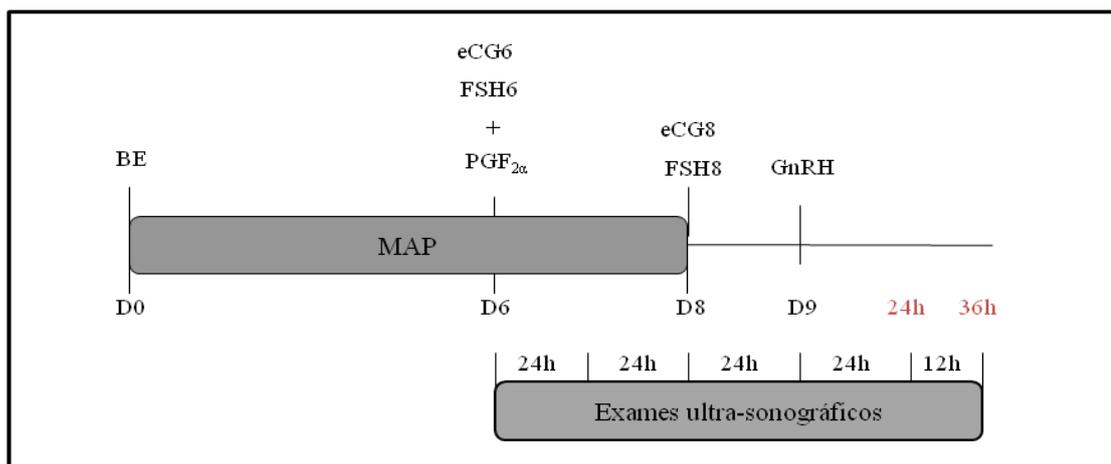


Figura 2.2 - Delineamento experimental 2. Dia 0: Colocação do pessário vaginal (250 mg de MAP) e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol IM; Dia 6: Aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol Sódico via IM; Dia 8: Retirada do pessário; 24 horas após: Aplicação de 100 µg de GnRH IM. No dia 6 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG6 (n=8) ou 10 mg de FSH no grupo FSH6 (n=8), ou no dia 8 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG8 (n=8) ou 10 mg de FSH no grupo FSH8 (n=8) ou não foi aplicado nenhum hormônio (n=8).

Assim como no Experimento 1, observou-se o padrão de crescimento folicular dos grupos experimentais, para tanto utilizou-se o mesmo protocolo de observação com o auxílio dos exames ultrassonográficos. Também foram realizadas mensurações de altura (A) e comprimento (C) dos corpos lúteos nos dias 5, 10 e 15 após ovulação, para verificação de uma possível influência em seu volume (V), dependendo do tipo de indutor de crescimento folicular, eCG e FSH. Para avaliação do volume da massa luteal foi utilizada a fórmula $V = \frac{4}{3} \times \pi \times R^3$, onde $R = (C/2 + A/2)/2$ (Souza et al. 2009; Vasconcelos et al. 2001). Os corpos lúteos cavitários foram mensurados, através da mesma fórmula, subtraindo-se o volume da cavidade com líquido do volume total.

Amostras de sangue para análise da concentração de P_4 foram coletadas das veias coccígeas com ajuda de tubos Vacutainer (Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, USA) nos dias 5, 10 e 15 após ovulação antes das análises ultrassonográficas luteais. Após coleta os tubos foram colocados em caixas isotérmicas a temperatura de 4°C por 20 minutos e

então centrifugados a 1500 x g por 20 minutos a 25°C. O soro foi removido e armazenado a -20°C até análise. A concentração de P₄ foi determinada com o auxílio de um kit de radioimunoensaio de fase sólida contendo tubos revestidos com anticorpos e Iodo 125 radioativo para progesterona (Coat-a-count, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA) de acordo com as instruções do fabricante. A sensibilidade do ensaio foi de 0,02 ng/ml, e o CV do intra-ensaio foi de 6,96%.

4.3 Experimento 3

Para avaliação da taxa de prenhez foram utilizados os grupos eCG6 (n=96) e eCG8 (n=103), sendo as vacas inseminadas após 16 horas da aplicação do GnRH (Figura 2.3).

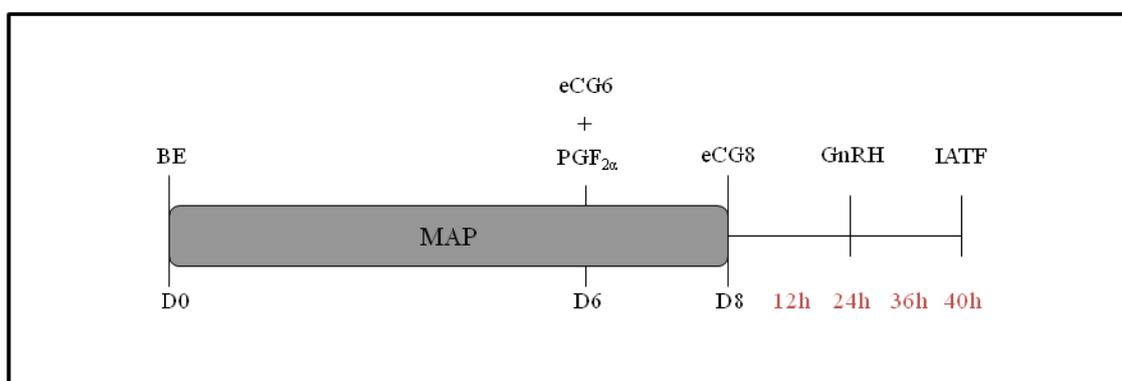


Figura 2.3 - Delineamento experimental 3. Dia 0: Colocação do pessário vaginal (250 mg de MAP) e aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol IM; Dia 6: Aplicação de 0,265 mg de Cloprostenol Sódico via IM; Dia 8: Retirada do pessário; 24 horas após: Aplicação de 100 µg de GnRH IM; Após 16 horas da aplicação de GnRH foi realizada a IATF. No dia 6 foram aplicadas 400 UI de eCG no grupo eCG6 (n=96) ou no dia 8 400 UI de eCG no grupo eCG8 (n=103).

Dentro dos grupos hormonais, foram selecionadas aleatoriamente 20 vacas para mensuração do volume luteal e dosagem de P₄ no dia 10 após ovulação utilizando a mesma metodologia do Experimento 2. Esta etapa foi adicionada a este Experimento com o intuito de correlacionar uma possível diferença na taxa de prenhez entre os grupos com um maior volume e produção de P₄ do corpo lúteo. O trabalho foi desenvolvido na mesma propriedade onde realizado o Experimento 2.

O diagnóstico de gestação foi realizado com ajuda de um aparelho de ultrassonografia, Aquilla Vet, equipado com uma probe linear transretal de 6 MHz 30 dias após a IA.

4.4 Análise estatística

Os dados de dinâmica folicular foram analisados utilizando-se um modelo de análise para dados repetidos (MIXED model) sendo determinados os efeitos principais grupo e dia, assim como sua interação. A diferença do diâmetro folicular a cada dia entre os distintos grupos foi determinada pelo “estimate statement”. Os dados de volume de CL e concentração de P_4 foram analisados por ANOVA, utilizando-se os Modelos Lineares Gerais (GLM), e a multi-comparação entre os distintos grupos realizada por quadrado médio mínimo (LSMEANS). A distribuição dos dados foi testada para normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk e normalizadas quando necessário utilizando logaritmo. Variáveis categóricas binomiais (prenhez e ovulação) foram analisadas pelo PROC CATMOD e a multi-comparação entre grupos realizada por meio de contrastes. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do pacote estatístico SAS e adotou-se como nível de significância $P < 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Experimento 1

A taxa de resposta dos animais aos tratamentos hormonais foi de: Controle (85,71%; 6/7), eCG6 (85,71%; 6/7), FSH10 (71,42%; 5/7) e FSH20 (100%; 7/7). A média dos diâmetros dos folículos nos dias 6, 7, 8 e 9 entre os grupos: Controle (n=6), eCG6 (n=6), FSH10 (n=5) e FSH20 (n=7) ($P>0,05$) estão mostrados na Tabela 2.1 (Ver Anexo A – Figura 2.10). O protocolos levaram a um crescimento folicular diário ($P<0,0001$), porém não houve interação grupo x dia. Todas as ovulações foram simples e a taxa de ovulação para os grupos Controle, eCG6, FSH10 e FSH 20 foram 83,3% (5/6), 100% (6/6), 80% (4/5) e 71,42% (5/7), respectivamente (Tabela 2.2). Todas as ovulações ocorreram entre 24 e 36 horas após a aplicação do GnRH.

Tabela 2.1 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos: Controle, eCG6, FSH10 e FSH20

GRUPOS	Tamanho Folicular (mm)			
	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9
Controle (n=6)	7,71 ± 0,41	8,03 ± 0,80	9,45 ± 0,66	10,18 ± 0,78
eCG6 (n=5)	7,92 ± 1,16	8,88 ± 1,22	10,24 ± 1,11	11,48 ± 1,06
FSH10 (n=5)	7,78 ± 0,55	9,44 ± 0,46	9,98 ± 0,69	10,12 ± 0,74
FSH20 (n=7)	7,21 ± 0,48	9,02 ± 0,40	9,72 ± 0,37	10,24 ± 0,55

A média dos diâmetros foliculares não diferiu entre os grupos. Não houve interação grupo x dia, porém, foi observado um crescimento folicular durante os dias de avaliação ($P < 0,001$).

Tabela 2.2 – Efeito dos tratamentos hormonais nos experimentos 1, 2 e 3 sobre a taxa de ovulação

	Taxa de Ovulação
Experimento 1	
Tratamento	
Controle	83,33% (5/6)
eCG6	100% (5/5)
FSH10	80% (4/5)
FSH20	71,42% (5/7)
Experimento 2	
Tratamento	
Controle	75% (3/4)
eCG6	85,72% (6/7)
FSH6	33,33% (2/6)
eCG8	50% (3/6)
FSH8	0% (0/6)
Experimento 3	
Tratamento	
eCG6	65% (13/20)
eCG8	73,68% (14/19)

Não foi encontrada diferença entre os grupos no experimento 3 ($P > 0,05$).

5.2 Experimento 2

A taxa de resposta dos animais aos tratamentos hormonais foi de: Controle (50%; 4/8), eCG6 (87,50%; 7/8), FSH6 (75%; 6/8), eCG8 (75%; 6/8), FSH8 (75%; 6/8). A média dos diâmetros dos folículos nos dias 6, 7, 8 e 9 entre os grupos: Controle (n=4), eCG6 (n=7), FSH6 (n=6), eCG8 (n=6) e FSH8 (n=6) ($P>0,05$) estão mostradas na Tabela 2.3 (Ver Anexo B – Figura 2.11). Também não houve interação grupo x dia, porém entre os dias ocorreu um crescimento folicular ($P<0,0001$). A taxa de ovulação para os grupos Controle, eCG6, FSH6, eCG8 e FSH8 foram 50% (2/4), 85,72% (6/7), 33,33% (2/6), 50% (3/6) e 0% (0/6), respectivamente (Tabela 2.2). Nenhum animal ovulou até 24 horas de aplicação do GnRH, sendo todos entre 24 e 36 horas.

Tabela 2.3 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos: Controle, eCG6, FSH6, eCG8 e FSH8

GRUPOS	Tamanho Folicular (mm)			
	Dia 6	Dia 7	Dia 8	Dia 9
Controle (n=4)	5,88±0,58	7,23±0,39	8,05±0,43	8,5±0,46
eCG6 (n=7)	5,89±0,44	7,21±0,52	8,54±0,48	9,96±0,46
FSH6 (n=6)	5,98±0,46	6,82±0,57	8,2±0,61	8,28±0,57
eCG8 (n=6)	5,97±0,27	6,93±0,43	7,43±0,32	8,57±0,23
FSH8 (n=6)	6,08±1,07	7,48±1,35	8,05±1,22	9±1,03

A média dos diâmetros foliculares não diferiu entre os grupos. Não houve interação grupo x dia, porém, foi observado um crescimento folicular durante os dias de avaliação ($P<0,001$).

No dia 5 da avaliação do volume luteal a média nos grupos Controle (n=2), eCG6 (n=6), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3) foram: 797,95±62,33 mm³, 2.059,63±247,79 mm³, 1.492,24±655,73 mm³ e 1.615,74±129,01 mm³, respectivamente. O grupo eCG6 foi superior ao Controle ($P<0,05$), porém não houve diferença entre os demais grupos. Nos dias 10 e 15 não foram encontradas imagens no ultrassom de corpos lúteos nos grupos Controle e FSH6. A média do volume dos corpos lúteos no dia 10 para os grupos eCG6 e eCG8 foram

4.224,69±169,64 mm³ e 2.096,47±1.861,69 mm³ (P>0,05). No dia 15 também não foi encontrada diferença significativa entre os grupos eCG6 (4.331,70±348,25 mm³) e eCG8 (3.044,1±2.329,8 mm³) (Figura 2.4).

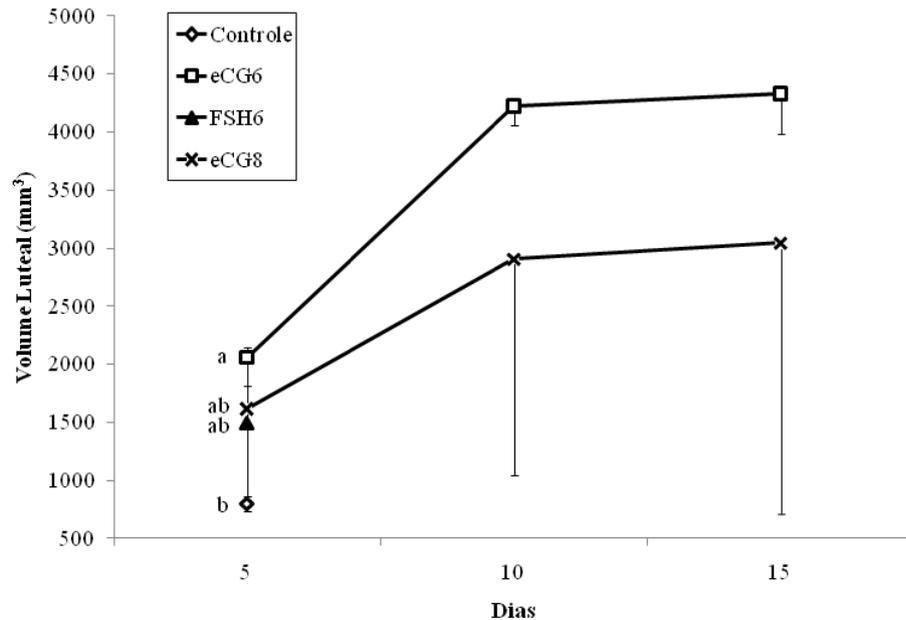


Figura 2.4 – Volume luteal nos dias 5, 10 e 15 após ovulação nos grupos: Controle (n=2), eCG6 (n=6), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3). O grupo eCG6 foi superior ao Controle (P<0,05) no dia 5, porém não houve diferença entre os demais grupos nos diferentes dias. Nos dias 10 e 15 não foram diagnosticadas imagens de corpos lúteos nos grupos Controle e FSH6.

A concentração de P₄ nos grupos Controle (n=2), eCG6 (n=5), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3) está demonstrada na Tabela 2.4. Não houve diferença entre os grupos nem interação grupo x dia (P>0,05).

Tabela 2.4 – Concentração de P₄ (ng/ml) nos dias 5, 10 e 15 após ovulação nos grupos: Controle (n=2), eCG6 (n=5), FSH6 (n=2) e eCG8 (n=3)

GRUPOS	Concentração de P ₄ (ng/ml)		
	Dia 5	Dia 10	Dia 15
Controle (n=2)	0,66 ± 0,01	0,09 ± 0,03	0,16 ± 0,03
eCG6 (n=5)	2,84 ± 0,52	8,06 ± 2,56	6,01 ± 2,52
FSH6 (n=2)	3,16 ± 1,55	0,88 ± 0,84	0,47 ± 0,39
eCG8 (n=3)	2,68 ± 0,59	2,92 ± 1,85	2,46 ± 2,32

Não houve diferença estatística entre os grupos nem interação grupo x dia ($P > 0,05$).

Não foi encontrada diferença entre os grupos nas duas dinâmicas quando analisadas separadamente. Porém, quando os dados são analisados em conjunto, observa-se diferença estatística entre os grupos, Controle, eCG6 e FSH6. A média de diâmetro dos folículos nos dias 6, 7, 8 e 9 nos grupos foi de: Controle (6,98±0,44 mm; 7,71±0,5 mm; 8,89±0,47 mm; 9,51±0,55 mm; n=10), eCG6 (6,73±0,60 mm; 7,91±0,61 mm; 9,25±0,57 mm; 10,59±0,54 mm; n=12) e FSH6 (6,8±0,44 mm; 8,01±0,55 mm; 9,01±0,52 mm; 9,12±0,52 mm; n=11). Houve interação grupo x dia, onde o diâmetro folicular no grupo eCG6 no dia 9 foi maior que nos grupos Controle e FSH6 ($P < 0,05$), porém estes não diferiram entre si (Figura 2.5).

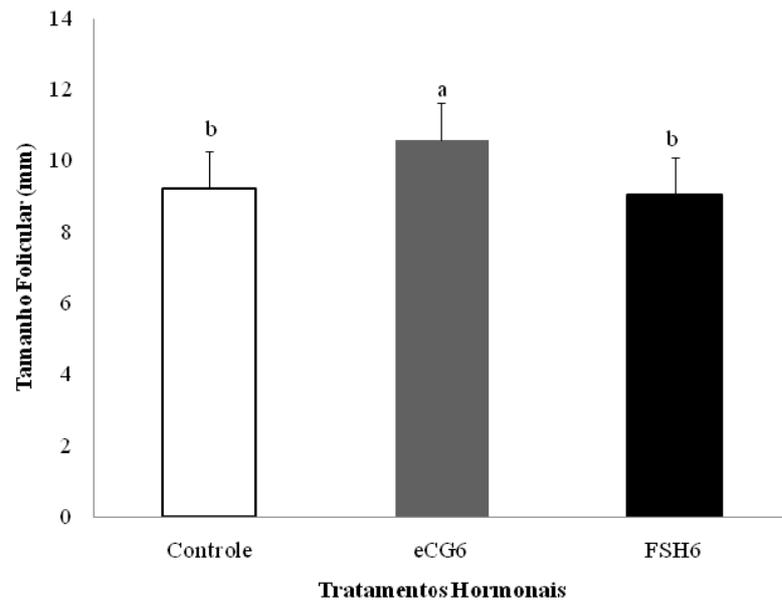


Figura 2.5 - Tamanho do folículo pré-ovulatório no dia da aplicação do GnRH (dia 9) nos grupos Controle (n=10), eCG6 (n=12) e FSH6 (n=11). A média dos diâmetros foliculares diferiu entre os grupos ($P < 0,05$).

5.3 Experimento 3

As taxas de prenhez nos grupos eCG6 e eCG8 foram: 23,96% (23/96) e 13,59% (14/103), respectivamente ($P = 0,06$; Figura 2.6). As taxas de ovulação foram de 65% (13/20) eCG6 e 73,68% (14/19) eCG8 ($P > 0,05$; Tabela 2.2).

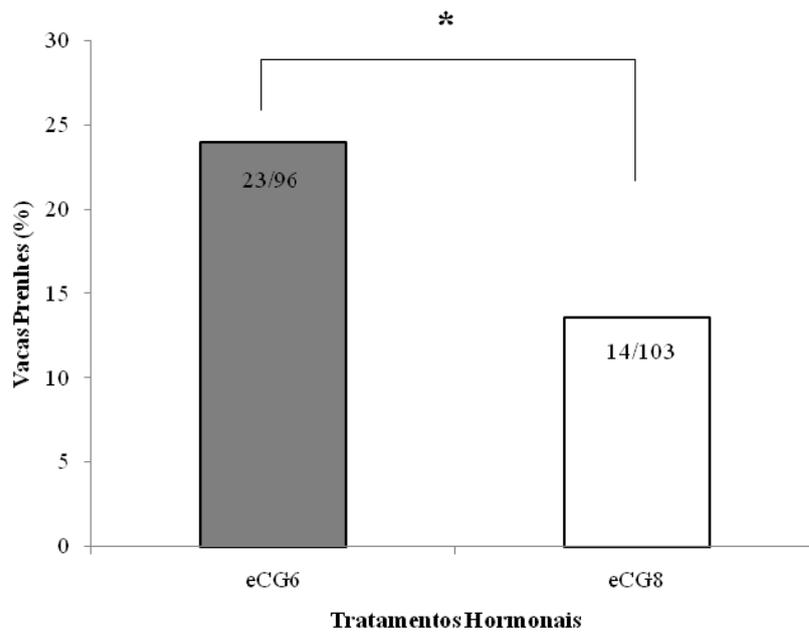


Figura 2.6 – Taxa de prenhez em vacas de corte 40-60 dias pós-parto submetidas ao protocolo eCG6 (23/96=23,96%) e eCG8 (14/103=13,59%) (P=0,06)*.

No dia 10 as médias do volume dos corpos lúteos dos grupos eCG6 ($4.284,43 \pm 776,49 \text{ mm}^3$; n=13) e eCG8 ($3.149,37 \pm 441,22 \text{ mm}^3$; n=13) não diferiram ($P > 0,05$; Figura 2.7).

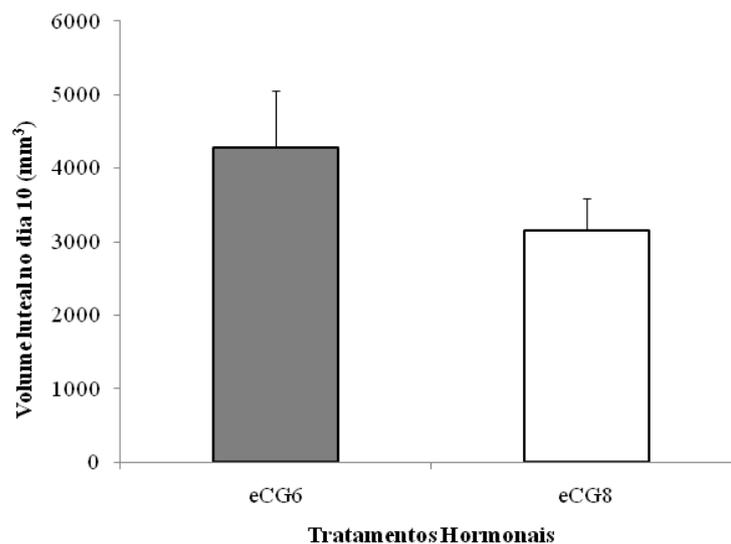


Figura 2.7 – Volume luteal no dia 10 após ovulação nos grupos: eCG6 (n=13) e eCG8 (n=13) ($P > 0,05$).

A concentração de P_4 no dia 10 após ovulação nos grupos eCG6 e eCG8 foi: $9,38 \pm 1,01$ ng/ml ($n=13$) e $5,39 \pm 0,61$ ng/ml ($n=13$; $P < 0,05$), respectivamente (Figura 2.8).

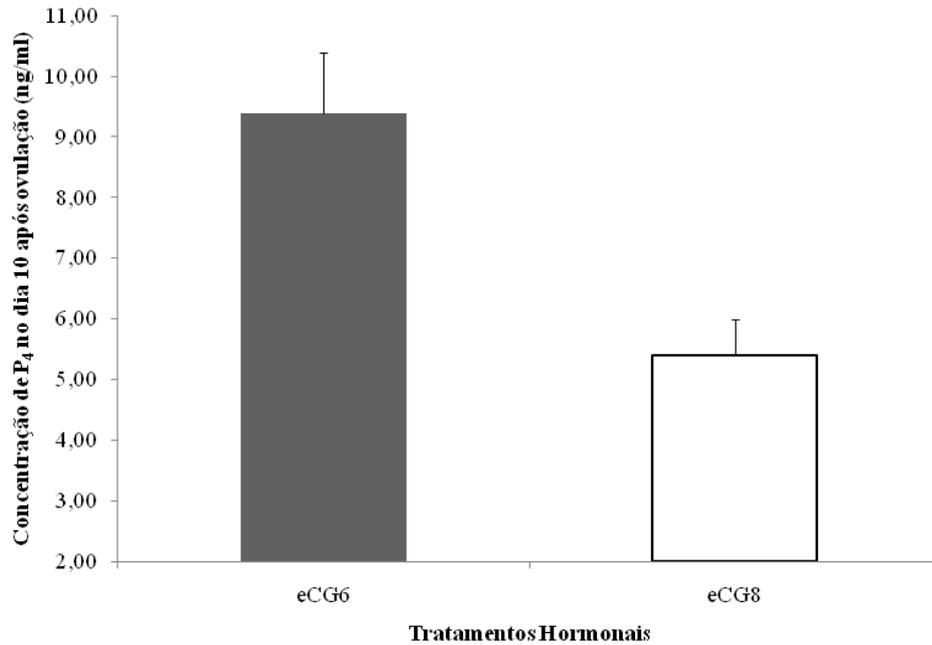


Figura 2.8 – Concentração de P_4 nos dia 10 após ovulação nos grupos eCG6 ($n=11$) e eCG8 ($n=9$) ($P > 0,05$).

6 DISCUSSÃO

Em um protocolo hormonal de IATF é de fundamental importância a avaliação do tamanho do folículo pré-ovulatório pois dele depende a taxa de ovulação (Gimenes et al. 2008; Sartori et al. 2001), o tamanho do corpo lúteo a ser formado (Vasconcelos et al. 2001) e o índice de prenhez (Perry et al. 2007). Com este objetivo utiliza-se nos tratamentos hormonais alguns indutores de crescimento folicular. No Experimento 1 não foi encontrada diferença significativa no tamanho do folículo ovulatório entre as doses de FSH testadas, 10 e 20 mg, e o eCG (400 UI). Entretanto, houve uma diferença considerada fisiológica no tamanho folicular de 1,3 mm a mais nas vacas que receberam eCG no dia 6 em relação aos outros grupos, o que poderia influenciar na taxa de prenhez. A discrepância entre o diâmetro folicular dos grupos eCG, FSH10 e FSH20 no Experimento 1 pode ser atribuída à meia-vida mais curta do FSH em relação ao eCG, 5 horas (Demostier et al. 1988) e 5-7 dias (Siddiqui et al. 2002), respectivamente. Ou seja, enquanto a ação principal do FSHp concentra-se no primeiro dia de aplicação, o eCG continua a estimular a esteroidogênese, crescimento folicular, de maneira constante por mais dias.

Sartori et al. (2001) destacaram que o folículo *Bos taurus* adquire capacidade ovulatória por volta dos 10 mm, porém a dose de LH necessária para induzir a ovulação é mais alta que em folículos de diâmetro de 12 mm. Santos et al. (2007a) em estudo da dinâmica ovariana na raça Nelore não encontraram diferença entre a aplicação destas doses de FSH e eCG, corroborando com os dados do presente experimento. Porém, o diâmetro do folículo pré-ovulatório foi superior ao do presente estudo. Em seu experimento os grupos alcançaram, FSH10 (13,7 mm), FSH20 (13,3 mm) e eCG (13,4 mm), enquanto que o melhor grupo observado em nosso estudo, eCG6, alcançou 11,48 mm. Em contrapartida em experimento realizado por Nascimento et al. (2007b) em vacas Nelore o maior folículo ovulatório atingiu 9,63 mm, sendo menor que os obtidos no nosso experimento. As diferenças

de diâmetros foliculares encontradas entre os experimentos podem ser atribuídas a peculiaridades como raça, alimentação, manejo em geral, diferentes períodos pós-parto, erro em mensurações ultrassonográficas, e outros fatores.

A taxa de ovulação entre os grupos foi similar a trabalhos anteriores com a raça Nelore (Nascimento et al. 2007b; Santos et al. 2007a), porém o único grupo que proporcionou 100% dos animais a ovulação foi o eCG6. Tendo em vista que não houve diferença no tamanho folicular final e na taxa de ovulação entre as doses de FSHp testadas, para os futuros experimentos foi utilizada a dose de 10 mg/animal.

No Experimento 2 os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios entre os grupos eCG e FSHp não diferiram, porém foram abaixo dos encontrados em outros trabalhos (Borges et al. 2008; Duffy et al. 2004; Santos et al. 2007a; Sá Filho et al. 2009a). O menor tamanho do folículo ovulatório pode ser consequência de uma diminuição da CC durante realização da dinâmica folicular e de um período pós-parto recente, 45 dias para a maioria das vacas.

Apesar de não ter sido encontrada diferença entre o grupo eCG6 e FSH6 nas duas dinâmicas, quando os dados são analisados em bloco e o número de animais por grupo aumenta, houve diferença entre eles. Ou seja, a aplicação de FSHp no dia 6 não foi eficiente em aumentar o tamanho folicular em comparação quando o eCG é aplicado 2 dias antes da retirada da fonte de P₄.

Partindo de um tamanho ovulatório baixo era esperado que a taxa de ovulação fosse baixa, o que acabou se confirmando (Sartori et al. 2001), com exceção do grupo eCG6. O grupo eCG6 aproximou-se dos 10 mm, tendo um estímulo de LH suficiente que levasse o folículo a ovular. Os grupos FSH6 e FSH8 tiveram 33,33% (2/6) e 0% (0/6) de ovulação contrariando todos os experimentos até agora realizados (Nascimento et al. 2007a,b; Sá Filho et al. 2009a; Santos et al. 2007a,b; Valentin et al. 2008), onde a taxa de ovulação mínima do FSHp aplicado no dia da retirada da fonte de progesterona encontrada foi de 83,3%.

Com relação à análise do volume luteal nos grupos em que o eCG não foi aplicado, Controle e FSH6, houve uma regressão prematura do CL, pois ao exame ultrassonográfico não foi observada nenhuma estrutura similar no dia 10 e 15 pós-ovulação. No dia 5 o volume luteal no grupo eCG6 foi superior e manteve-se nos dias 10 e 15 com uma menor variabilidade em relação ao grupo eCG8. Souza et al. (2009) utilizando o eCG em vacas de leite com 50 dias pós-parto encontraram volumes a partir do dia 7 pós-ovulação (em torno de 5.000 mm³), tendo um pico no dia 12 (em torno de 7.000 mm³) e retornando no dia 16 a faixa de 5.000 mm³. Vasconcelos et al. (2001) tiveram resultados semelhantes com vacas de leite com 120 dias pós-parto no dia 7, 5.000 mm³ e no dia 14, 6.500 mm³. A diferença no

volume luteal encontrado no presente experimento em relação aos trabalhos citados pode ser explicada pelo menor tamanho de folículo pré-ovulatório e categoria animal (Cavaliere et al. 2004; Vasconcelos et al. 2001).

No presente estudo observou-se uma luteólise prematura não esperada nos grupos Controle e FSH6, visto que uma das funções da progesterona nos protocolos de IATF é a prevenção deste evento (Troxel et al. 1993; Zollers et al. 1993; Para revisão em Yavas & Walton, 2000). Talvez apenas a presença de uma fonte de progesterona não seja suficiente para manutenção do corpo lúteo, mas também uma adequada pulsatilidade de LH seja necessária. Isto para que o folículo pré-ovulatório atinja uma capacidade esteroidogênica mínima para manutenção deste corpo lúteo. Os grupos tratados com eCG não sofreram luteólise prematura, possivelmente pela ação nos receptores de LH estimulando desta forma a capacidade de síntese de esteróides deste folículo e futuro corpo lúteo. Mann & Lamming (2000) verificaram que a partir da secreção de quantidades inadequadas de estradiol pelo folículo pré-ovulatório houve uma menor inibição dos receptores de ocitocina, pós-ovulação, no útero. Consequentemente o maior número de receptores de ocitocina pode ter levado a um processo de luteólise prematura em relação aos corpos lúteos originados dos folículos com maior capacidade esteroidogênica. Entretanto, Sá Filho et al. (2009b) não verificaram influência da aplicação de uma fonte exógena de estradiol durante sincronização da ovulação em vacas Nelore na redução da luteólise prematura. Seus resultados demonstram que o tratamento com diferentes dias de permanência da fonte de progesterona diminuíram a ocorrência dos ciclos curtos, mas que a administração do cipionato de estradiol e do 17- β estradiol não foram eficientes na prevenção deste evento.

Não foi encontrada diferença entre os grupos com relação a produção de P_4 nas vacas da dinâmica folicular devido ao baixo número de animais por grupo, porém a aplicação do eCG no dia 6 teve um maior incremento na concentração de P_4 , principalmente nos dias 10 e 15. Como era de se esperar as vacas dos grupos FSH6 e Controle levaram a uma concentração menor que 1 ng/ml nos dias 10 e 15 após ovulação. Entretanto, apesar de ter se detectado uma massa luteal nas vacas do grupo Controle no dia 5, provavelmente o CL não era funcional pela concentração abaixo de 1 ng/ml.

A partir dos resultados do crescimento folicular, taxa de ovulação e volume luteal, foram selecionados os dois melhores tratamentos hormonais para avaliação da taxa de prenhez. O objetivo inicial foi comparar o protocolo eCG6 com o melhor grupo com FSHp, porém quando a aplicação de FSHp foi realizada no dia 6, houve diferença significativa no tamanho folicular para o eCG6 e o corpo lúteo formado nas vacas do grupo FSH6 regrediu

prematuramente. Já na aplicação no dia 8 não resultou em ovulação em nenhum dos animais inviabilizando a utilização deste hormônio neste dia. Então foram escolhidos os grupos eCG6 e eCG 8 já que não foi encontrada diferença entre o tamanho folicular, mantiveram os corpos lúteos por uma vida normal e não diferiram quanto ao seu volume.

A taxa de prenhez entre os grupos teve um nível de significância de 6%, porém o resultado final de prenhez no eCG6 (23,96%) e eCG8 (13,59%) ficaram distante da média de 50% encontrada na literatura (Colazo et al. 2004; Martinez et al. 2002; Martinez et al. 2005). E mesmo o grupo eCG6 estando perto da variação que se tem conhecimento, 25 - 67%, (Geary et al. 2001; Kasimanickan et al. 2006; Siqueira et al. 2008) resultados abaixo de 50% de prenhez não justificam o trabalho de manejo com os animais e o custo com material para realização da IATF. Os resultados corroboram com trabalho realizado por Lima et al. (2010), em que a substituição do eCG pelo FSHp em vacas primíparas pós-parto proporcionou um índice de prenhez menor, não sendo benéfica sua utilização nesta categoria animal.

Durante o nosso estudo da taxa de prenhez, o manejo dos animais no estado do Rio Grande do Sul estava sobre influência de fortes chuvas, no qual a precipitação pluviométrica, durante a realização do Experimento 3 foi de 600 mm no interstício de 15 dias. O excesso de chuvas com conseqüente menor período de alimentação e acúmulo de lama na área de manejo, contribuiu para o aumento do estresse nutricional e físico das vacas (Bastos et al. 2004; Terra et al. 2008). Aliado a estes fatores o período noturno das inseminações tendo em vista o protocolo utilizado influenciou para aumentar o estresse do manejo, comprometendo o resultado final de prenhez.

Outro fator que ajuda a entender a baixa taxa de prenhez é a taxa de ovulação nos tratamentos hormonais, que apesar de não diferirem estatisticamente foram baixas. Ou seja, partindo de uma taxa de ovulação baixa e um potencial de fertilidade comprometido pelas razões citadas acima era de se esperar uma taxa de prenhez baixa.

A partir da diferença encontrada ($P=0,06$) entre os tratamentos hormonais na taxa de prenhez, esperava-se encontrar também entre o volume luteal, porém isto não ocorreu. Entretanto quando a concentração de P_4 foi mensurada verificou-se que o grupo eCG6 propiciou uma maior produção de P_4 pelo CL, quando comparado ao eCG8. O maior estímulo esteroidogênico se deve ao fato de que no grupo eCG6 as vacas tiveram 2 dias a mais de ação por parte do eCG, ocorrendo assim um maior desenvolvimento em tamanho e função das células luteínicas. Alguns autores relatam que quanto maior a concentração de progesterona após a ovulação tanto maior será o desenvolvimento do conceito (Carter et al. 2008), produção de interferon-tau (IFN- τ) (Mann et al. 2006) que é o responsável pelo

reconhecimento materno da prenhez (Marques et al. 2007) e desta forma diminuindo as perdas embrionárias precoces. Beltman et al. (2009) não encontraram associação entre a suplementação de progesterona na fase luteal inicial com peso do corpo lúteo e tamanho do concepto, porém houve interação entre a concentração de progesterona periférica e a taxa de sobrevivência embrionária.

7 CONCLUSÕES

Os resultados do experimento demonstram que uma única aplicação de FSHp no dia 6 não é eficiente em aumentar o tamanho do folículo ovulatório de maneira compatível com o alcançado com a aplicação de eCG no dia 6. Além disso promove uma luteólise prematura dos corpos lúteos . O FSHp quando aplicado no dia 8 não promove uma ovulação.

A utilização do eCG no dia 8 não difere da aplicação de eCG no dia 6 do protocolo quanto a tamanho de folículo ovulatório, taxa de ovulação e volume luteal, porém tende a ser inferior quando obtém-se resultados de prenhez, além da concentração de P_4 ser menor. Contudo, o protocolo eCG6 é considerado um dos melhores tratamentos hormonais possibilitando um maior folículo ovulatório, concentração de P_4 e prenhez.

8 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem às propriedades rurais Fazenda do Salso e Fazenda do Sossego pela disponibilização dos animais e a CAPES pela bolsa de estudo.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of homonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p. 479-486, 2004.

BASTOS, G.M.; BRENNER, R.H.; WILLKE, F.W. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, v.62, p.847-853, 2004.

BENYEI, B.; BARROS, C.C.W. Efeito da superovulação sobre o desempenho de bovinos doadores de embrião importados de clima temperado para clima tropical nos dois primeiros anos de adaptação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.4, 2000.

BELTMAN, M.E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.G. et al. Effect of progesterone supplementation in the first week post conception on embryo survival in beef heifers. **Theriogenology**, 2009. (Article in press)

BORGES, L.F.K.; FERREIRA, R.; SIQUEIRA, L.C. et al. Sistema para inseminação artificial sem observação de estro em vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.496-501, 2008.

CARTER, F.; FORDE, N.; DUFFY, P. et al. Effect of increasing progesterone concentration from Day 3 of pregnancy on subsequent embryo survival and development in beef heifers. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, p.368-375, 2008.

CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; MACMILLAN, K.L. Ovarian follicular development in Holstein cows following synchronisation of oestrus with estradiol benzoate and an intravaginal progesterone releasing insert for 5-9 days and duration of the oestrous cycle and concentrations of progesterone following ovulation. **Animal Reproduction Science**, v.81, p.177-193, 2004.

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

DEMOSTIER, M.M.; BECKERS, J.F.; VAN DER ZWALMEN, P. et al. Determination of porcine plasma follitropin levels during superovulation treatment in cows. **Theriogenology**, v.30, p.379-86, 1988.

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 post-partum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, v.61, p.725-734, 2004.

GALINA, C.S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.465-470, 1996.

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, p.1-4, 2001.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* capacity. **Theriogenology**, v.69, p.852-858, 2008.

KASIMANICKAM, R.; COLLINS, J.C.; WUENSHELL, J. et al. Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal drug release removal and gonadotrophin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. **Theriogenology**, v.66, p.166-172, 2006.

LIMA, L.A.; PINHEIRO, V.G.; CURY, J.R. et al. Addition of FSH, in contrast to eCG, does not increase pregnancy rates in anestrous Nellore (*Bos indicus*) cows treated with fixed-time AI protocol. In: Proceedings of the Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, 22. (Suplemento I), 2010, Córdoba, Argentina. **Anais... Córdoba**, IETS, 2010. p.170.

McMANUS, C.; SAUERESSIG, M.C.; FALCÃO, R.A. Componentes reprodutivos e produtivos no rebanho de corte da Embrapa Cerrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.648-657, 2002.

MADUREIRA, E.H.; PIMENTEL, J.R.V. IATF como uma ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, Goiânia, GO. Anais: Palestras, 2005.

MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-s production in the cow. **The Veterinary Journal**, v.71, p.500-503, 2006.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrus cycle in cow. **Animal Reproduction of Science**, v.64, p.171-180, 2000.

MARQUES, V.B.; BERTAN, C.M.; DE ALMEIDA, A.B. et al. Interferon-tau e o reconhecimento da gestação em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, n.4, p.479-488, 2007.

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, p.1049–1059, 2002.

MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BO, G.A. et al. Effects of estradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.

NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A.; DIAS, M. et al. Taxas de prenhez com o uso do FSH-p na sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007a, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007a. p.1135.

NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A.; DIAS, M. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007b, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007b. p.1134.

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, p.99-105, 1999.

PIRES, V.A.; ARAUJO, C.R.; MENDES, Q.C. Fatores que interferem na eficiência reprodutiva de bovinos de corte. In: SIMPÓSIO PECUÁRIA INTENSIVA NOS TRÓPICOS. **Anais... Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz**, 2004. p. 355-398.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; ROBERTS, A.J. et al. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifer. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 684–689, 2007.

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

SÁ FILHO, O.G.; THATCHER, W.W.; VASCONCELOS, J.L.M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v.112, p.95-106, 2009b.

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. In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007a, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007a. p.1152.

SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; VALENTIN, R. et al. Taxa de prenhez a IATF de vacas Zebuínas em anestro tratadas com dose única de FSHp (Folltropin®). In: XXI REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 35. (Suplemento 3), 2007b, Salvador, BA. **Anais... Salvador**, SBTE, 2007b. p.1151.

SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P. et al. Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001.

SIDDIQUI, M.A.; SHAMSUDDIN, M.; BHUIYAN, M.M. et al. Effect of feeding and body condition score on multiple ovulation and embryo production in zebu cows. **Reproduction of Domestic Animals**, v.37, p.37-41, 2002.

SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.C.; LOGUÉRCIO, R. da S. et al. Sistemas de inseminação artificial em dois dias com observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.411-415, 2008.

SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, p.10-21, 2009.

TERRA, G.H.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. et al. Indução da ovulação em vacas de corte com diferentes ofertas forrageiras durante o período pós-parto. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.1, p.219-225, 2008.

TROXEL, T.R.; CRUZ, L.C.; OTT, R.S. et al. Norgestomet and gonadotropin-releasing hormone enhance corpus luteum function and fertility of post partum suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v.71, p.2579-2585, 1993.

VALENTIN, 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. In: XXII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 36. (Suplemento 2), 2008, Guarujá, SP. **Anais... Guarujá**, SBTE, 2008. p.597.

VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N. et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, p.307-314, 2001.

VIEIRA, A.; LOBATO, J.F.P.; JUNIOR, R.A.A.T. et al. Fatores Determinantes do Desempenho Reprodutivo de Vacas Nelore na Região dos Cerrados do Brasil Central. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2408-2416, 2005.

WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER, P.E. et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal Dairy of Science**, v.65, p.495-501, 1982.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.1-23, 2000.

ZIMMER, A. H.; EUCLIDES FILHO, H. As pastagens e a pecuária de corte brasileira. In: SIMPÓSIO ANIMAL SOBRE A PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, Viçosa, MG. **Anais... Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa**, 1997. p. 349-379.

ZOLLERS, W.G.; GARVERICK, H.A.; SMITH M.F. et al. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal estrous cycle. **Reproduction**, v.97, p.329-337, 1993.

CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho permite observar que em vacas cruza *Bos taurus* x *Bos indicus* amamentando, entre 40-60 dias pós-parto, com condição corporal média 3, o folículo necessita de um estímulo hormonal para o crescimento, com ação nos receptores de FSH e LH, antes da retirada da fonte de progesterona. A substituição do eCG pelo FSHp nestas vacas não é portanto indicada.

ANEXOS

ANEXO A – DINÂMICA FOLICULAR DAS VACAS TRATADAS COM OS PROTOCOLOS HORMONAIS NO EXPERIMENTO 1

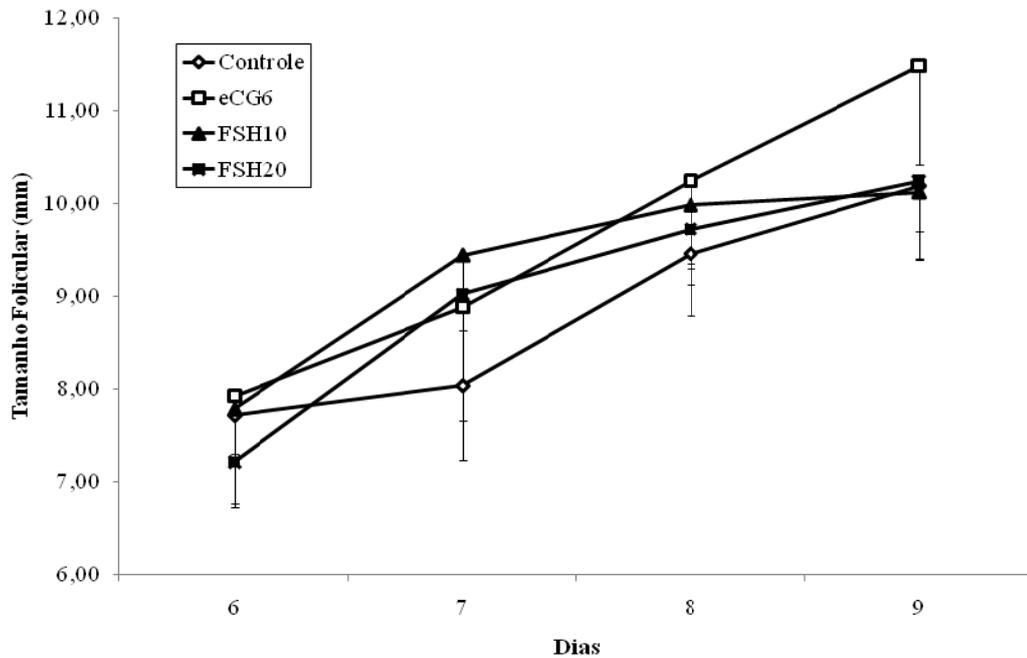


Figura 2.9 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos: Controle (n=6), eCG6 (n=6), FSH10 (n=5) e FSH20 (n=7). A média dos diâmetros foliculares não diferiu entre os grupos. Não houve interação grupo x dia, porém, foi observado um crescimento folicular durante os dias de avaliação ($P < 0,001$).

ANEXO B – DINÂMICA FOLICULAR DAS VACAS TRATADAS COM OS PROTOCOLOS HORMONAIS NO EXPERIMENTO 2

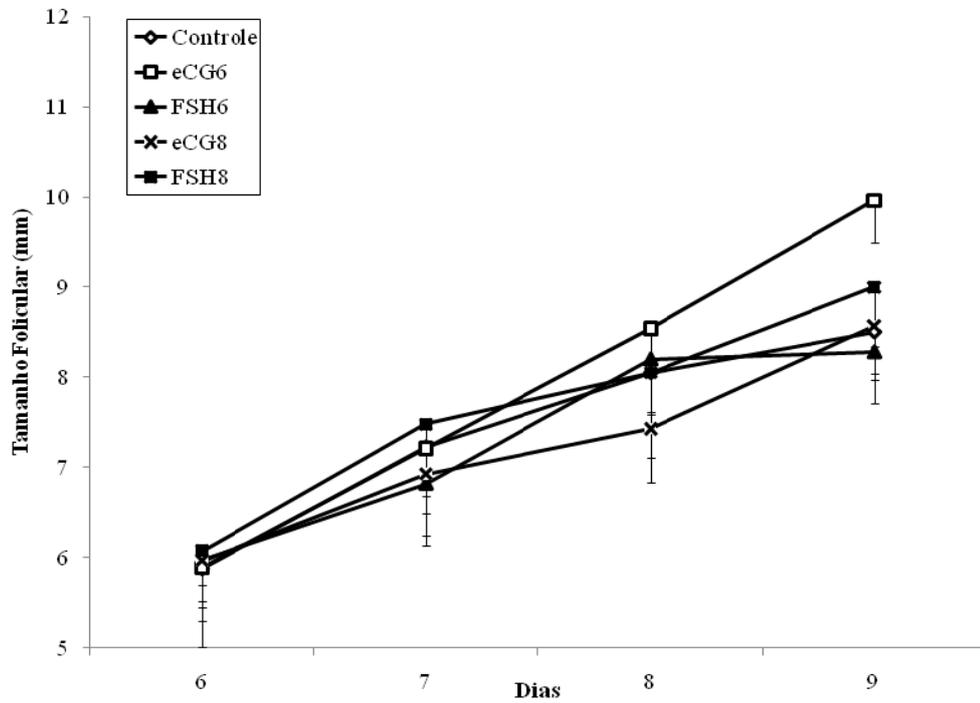


Figura 2.10 - Tamanho do folículo dominante desde a aplicação do eCG e FSH (dia 6) até a aplicação de GnRH (dia 9) nos grupos: Controle (n=4), eCG6 (n=7), FSH6 (n=6), eCG8 (n=6) e FSH8 (n=6). A média dos diâmetros foliculares não diferiu entre os grupos. Não houve interação grupo x dia, porém, foi observado um crescimento folicular durante os dias de avaliação ($P < 0,001$).