UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO DA RESPONSIVIDADE HIPOTALÁMICA-HIPOFISÁRIA DURANTE O PÓS-PARTO EM VACAS NELORE

VINÍCIUS GONÇALVES PINHEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Ciro Moraes Barros

BOTUCATU - SP
Abril/2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO DE AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Pinheiro, Vinícius Gonçalves.
A suplementação alimentar ou a remoção de bezerro antecipam a primeira ovulação pós-parto induzida por GnRH ou bezoato de estradiol em vacas Nelore / Vinícius Gonçalves Pinheiro. - Botucatu, 2011

Tese (doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2011
Orientador: Ciro Moraes Barros
Capes: 50504002

1. Nelore (Zebu). 2. Bezerro. 3. Ovulação – Indução.

Palavras-chave: Anestro; Bos indicus; GnRH; LH; Nelore; Pós-parto.

Nome do Autor: Vinícius Gonçalves Pinheiro

Título: AVALIAÇÃO DA RESPONSIVIDADE HIPOTALÁMICA-HIPOFISÁRIA DURANTE O PÓS-PARTO EM VACAS NELORE

Comissão Examinadora

Professor **Dr. Ciro Moraes Barros**
Presidente e Orientador
Departamento de Farmacologia
IBB- UNESP-Botucatu

Professor **Dr. Pietro Sampaio Barusselli**
Departamento de Reprodução Animal
FMVZ – USP – São Paulo

Professor **Dr. Guilherme de Paula Nogueira**
Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal
UNESP – Araçatuba.

Professor **Dr. João Carlos Pinheiro Ferreira**
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia veterinária
FMVZ –UNESP- Botucatu.

Professor **Dr. Sony Dimas Bicudo**
Departamento de Reprodução Animal e Radiologia veterinária
FMVZ –UNESP- Botucatu.

Dedicatória

Dedico este trabalho

À Deus, por ter me dado tão grande oportunidade e por ter me feito forte nos momentos mais difíceis e perseverante em meus objetivos.

À minha noiva Danielle, que sempre esteve ao meu lado nos momentos mais difíceis, me dando força para superar as minhas frustrações e sendo cúmplice nas minhas jornadas. Pela ajuda incondicional nas inúmeras jornadas diurnas e noturnas na elaboração deste trabalho. A força que brota do nosso amor nos faz cada vez mais fortes para vencer os desafios.

Aos meus pais **Gilberto e Lúcia Helena,** aos meus irmãos **Gustavo, e Eduardo,** à minha irmã **Renata,** ao meu cunhado **Mauro** e minha cunhada **Jerusa,** aos meus sobrinhos **Arthur e Enzo,** enfim chegou o dia da conquista de um grande sonho. Esta conquista também é de vocês. Agradeço aos meus familiares e os dedico esta tese, pois vocês são a razão da minha vida e me dão a força de que preciso para vencer os obstáculos.

À minhas **avós, Tereza e Maria Dolores** (*in memorian*) e meu avó **Teodolino** (in memorian), pois eles deixaram não só a saudade para quem fica, mas sim os ensinamentos que me fizeram conquistar tudo que tenho até hoje. No amanhã, eles farão falta, mas suas vozes aconchegantes estarão sempre me guiando em bons caminhos.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Professor Dr. Ciro Moraes Barros: Primeiramente por ter possibilitado a concretização deste grande sonho; Pelos ensinamentos; Exemplo de profissionalismo e ética científica. Ensinou-me a questionar e sempre procurar a resposta para as dúvidas; mas, sobretudo, ensinou-me a ter paixão pela pesquisa, seus ensinamentos jamais serão esquecidos.

À minha noiva Danielle. Agradeço por ter sido companheira e carinhosa nos momentos de alegria. Eu te amo por ter sido ainda mais companheira e carinhosa nos momentos de dificuldades; Está conquista também é sua meu amor.

Aos meus amigos Oscar e Ana Bernardes proprietários da fazenda Yguaporã pelo fornecimento dos animais e pelo apoio. Sem a ajuda incondicional de vocês nada disso poderia ter sido conquistado. Meu muito obrigado.

Aos funcionários da fazenda Yguaporã: José, Marcio, Bruno e Japonês pela ajuda na realização deste estudo.

À minha sogra Dona Maria Ignês pelas boas conversas e pelos deliciosos almoços dominicais.

Aos meus amigos: Rafael, Débora, Luis Otávio, Célia, Danilo, Bianca, Benedito, Catarina, José Renato, Marcelo Pegorer, Ronaldo Ereno, Alfredo, Bruna, Eduardo, Fernanda e Juliano: obrigado pelas conversas, boas risadas e, sobretudo pela amizade. Agradeço, especialmente, aos amigos José Renato, Eduardo, Rafael Satrapa e Carol pelo auxílio no desenvolvimento do experimento e pela amizade demonstrada. Aos amigos de pós-graduação: Rafaela, Cíntia, Thaís, Renato, Anthony, Janahi, Antônio (Cacá), Patrícia: vocês fazem parte desta conquista.

Ao meu grande amigo Danilo: “o verdadeiro amigo é aquele que te conhece tal como és, acompanha-te em teus lucros e teus fracassos, celebra tuas alegrias, compartilha tua dor e jamais te julga por teus erros.” Sei que posso contar com você nos momentos difíceis e nos chopps aos finais de semana.

Aos professores do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências - UNESP - Botucatu, pelos ensinamentos, pela amizade criada e pelos momentos agradáveis que passamos juntos.

À professora Luzia Aparecida Trinca do Departamento de Bioestatística da Universidade Estadual Paulista, campus Botucatu, pela realização da análise estatística deste trabalho. Obrigado pela paciência e disponibilidade prestada.

Aos funcionários do Departamento de Farmacologia: Ana Cristina Murcia de Souza, Janete Teixeira, Luiz Antônio de Oliveira e Paulo César Mioni. Obrigado pela amizade e pelos bons momentos compartilhados.

Ao professor Dr. Guilherme de Paula Nogueira (Laboratório de Endocrinologia do Departamento de Apoio, Produção e Saúde da Faculdade de Odontologia da Unesp – Araçatuba/SP) e técnica laboratorial Devani por terem realizado as dosagens de LH. Obrigado pela atenção e pelo profissionalismo demostrados.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de doutorado e pelo suporte financeiro, sem o qual não seria possível a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADO!

Listas

Lista de Figuras

Capítulo 2

Figura 1 - Influência da administração de GnRH ou bezoato de estradiol (BE) na ocorrência do pico de LH (ng/ml), em vacas Nelore primíparas, na semana anterior à primeira ovulação pós-parto.....pg. 54

Figura 2 - Influência da administração de GnRH ou bezoato de estradiol (BE) na ocorrência do pico de LH (ng/ml), em vacas Nelore primíparas, na mesma semana em que detectou-se a primeira ovulação pós-parto por meio de ultrassonografia.....pag. 55

Figura 3 - Influência da suplementação alimentar (supl) e da remoção de bezerro (RB) na ocorrência (dias) do primeiro pico de LH pós-parto em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE), GnRH ou LH.....pag. 58

Figura 4 – Influência da remoção de bezerro e da suplementação alimentar em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE), GnRH ou LH. No grupo controle não houve remoção de bezerro nem tratamento para indução da ovulação.....pag. 58

Lista de Tabelas

Capítulo 2

Tabela 1 – Número de dias (media±EPM) para a ocorrência da primeira ovulação pós-parto em vacas Nelore e Brangus primíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE) e GnRH a cada 7dias.....pag. 53

Tabela 2 – Número de dias (media±EPM) para a ocorrência da primeira ovulação pós-parto em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE, 1mg), GnRH (50µg) ou LH (12,5 mg) a cada 7 dias após o parto, com ou sem suplementação alimentar (SUPL) e na presença ou ausência de bezerro (RB).....pag. 56

Tabela 3 – Número de dias (media±EPM) para a ocorrência do primeiro pico de LH pós-parto em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE, 1mg), GnRH (50µg) ou LH (12,5mg) a cada 7 dias após o parto, com ou sem suplementação alimentar (SUPL) e na presença ou ausência da remoção de bezerro (RB).....pag. 57

Sumário

Resumo.....**pag**.**13**

Abstract.....**pag**.**14**

Capítulo 1 ..... pag. 15

Introdução e Objetivo **..... pag. 17**

Revisão de Literatura **..... pag. 24**

Referências Bibliográficas **..... pag. 31**

Capítulo 2 ..... pag. 43

Abstract **..... pag. 46**

Introdução **..... pag. 47**

Material e Método **..... pag. 49**

Resultados **..... pag. 53**

Discussão e Conclusão **..... pag. 59**

Referências **..... pag. 63**

PINHEIRO, V.G. **Avaliação da responsividade hipotalâmica-hipofisária durante o pós-parto em vacas Nelore.** Botucatu, 2011. 66p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A presença do bezerro, o escore de condição corporal, o balaço energético, o número de partos (multíparas vs. primíparas) e a raça são fatores que influenciam a duração do período de anestro pós-parto em vacas de corte. Objetivou-se com o presente trabalho avaliar em que período do pós-parto ocorre o restabelecimento dos estoques de LH, mensurados pela responsividade do eixo hipotalámico-hipofisário a administração exógena de GnRH ou BE, imediatamente após o parto. Foram utilizadas vacas Nelore (*Bos indicus*, n=21) e Brangus (3/5 Nelore x 5/8 Angus, n=19) primíparas (experimento 1) e vacas Nelore multíparas (experimento 2, n=90). Os animais de ambos os experimentos foram divididas aleatoriamente em dois grupos: Grupo BE (1 mg de BE, IM), Grupo GnRH (50 µg, lecirelina, IM). No experimento 2, os grupos BE-SUPL e GnRH-SUPL receberam os mesmos tratamentos especificados acima e foram suplementadas com ração balanceada a base de milho moído e farelo de algodão (3,5 Kg/dia). Adicionalmente, dezessete vacas Nelore (exp. 2) foram submetidas à remoção de bezerro (RB) logo após o parto. Além disso, no exp. 2 foram introduzidos dois grupos: LH (12,5 mg de LH IM) e Controle (não foi utilizado agente indutor de ovulação). Os fármacos foram administrados a partir do sétimo dia pós-parto (± 5 dias) em intervalos de 7 dias até a ocorrência da primeira ovulação, a qual foi determinada pela presença de CL detectado por exames ultrassonográficos semanais (US, Aloka 900) dos ovários. As amostras de sangue foram coletadas antes e 2 h (Grupos GnRH, LH e controle) ou 18 h (Grupo BE) depois da administração dos hormônios ou salina (controle) para determinação das concentrações de LH e progesterona por RIA. Os dados dos exp. 1 e 2 foram analisados por ANOVA. As primeiras ovulações detectadas nas vacas Nelore dos grupos GnRH em ambos os experimentos ocorreram 15 dias pós-parto. Além disso, as médias (em dias) para a primeira ovulação das vacas Nelore e Brangus (exp. 1) dos grupos GnRH foram menores quando comparadas com as do grupo BE (51,4±0,9 vs. 96,6±0,8 e 45,6±13,9 vs. 81,7±7,2 dias, respectivamente, $p<0,01$). No experimento 2, as médias em dias para ocorrência da primeira ovulação após o parto foram: BE (87,7±0,2); BE-RB (20,3±0,2); BE-SUPL (60,3±0,2); GnRH (40,4±0,1); GnRH-RB (21,0±0,1); GnRH – SUPL (26,4±0,1); LH (35,6±0,1); Controle (60,9±0,1). Houve diferença entre os grupos BE vs. BE-SUPL ($p<0,0001$); BE vs. BE-RB ($p<0,0001$); BE vs. Controle ($p<0,05$); BE vs. GnRH ($p=0,05$); GnRH vs. GnRH-SUPL ($p<0,05$); GnRH vs. GnRH-RB ($p<0,05$) e tendência entre os grupos LH vs. Controle ($p=0,10$). Os dados de ambos os experimentos demonstraram aumento na ocorrência de LH induzido já na semana anterior ao pico de LH responsável pela primeira ovulação pós-parto. Os resultados indicam que na segunda semana pós-parto existe LH suficiênte na hipófise para induzir a ovulação após da administração de GnRH ou BE. Entretanto, a administração de BE não induziu ovulação neste período, possivelmente devido à sensibilidade hipotalâmica a retroalimentação negativa de estrógenos, impedindo desta forma o pico pré-ovulatório de LH. Adicionalmente, a suplementação alimentar e a remoção de bezerro reduziu de 2 a 4 semanas o tempo para a primeira ovulação pós-parto induzida por GnRH ou BE.

Palavras-chave: Anestro, GnRH, pós-parto, LH, *Bos indicus*, Nelore

PINHEIRO, V.G. **Evaluation of hypothalamic-pituitary responsiveness during the postpartum Nellore cows.** Botucatu, 2011. 66p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

Abstract

The presence of calf, body condition score, energy balance, number of births (multiparous vs primiparous) and breed are factors that influence the duration of postpartum anestrus in beef cows. The purpose of the present study was to evaluate, during early postpartum, the time necessary for reestablishment of pituitary LH stocks, determined by the hypothalamic-pituitary axis responsiveness to exogenous administration of GnRH or estradiol benzoate (EB). Primiparous lactating Nelore (*Bos indicus*, n=21) and Brangus (3/5 Nellore x 5/8 Angus, n=19) cows (experiment 1), and multiparous lactating Nellore (n=90, exp. 2), were used. In both exp. the animals were randomly allocated into two groups: EB group (1.0 mg of EB, i.m.), GnRH group (50 μg lecireline, i.m.). In experiment 2, EB-SUP and GnRH-SUP groups received the same treatments above specified and were supplemented with a balanced diet, based on cotton meal and ground corn (3.5 kg/day). Additionally, Nellore seventeen cows (exp. 2) had their calf removed (CR) shortly after parturition. Moreover, in experiment 2 two other groups were introduced: LH group (LH 12.5 mg, i.m) and Control group (received saline instead of an ovulation-inducing agent). The hormones were administered weekly, from seven days postpartum (± 5 days) until the occurrence of the first ovulation, which was determined by the presence of CL during weekly ovarian ultrasonography. Blood samples were collected just before and 2 h (GnRH, LH and control groups) or 18 h (EB groups) after hormone or saline (control) administration, in order to determine LH and progesterone concentrations by RIA. Data were analyzed by ANOVA. The earliest ovulations detected in Nellore cows from GnRH groups in both experiments occurred 15 days after parturition. Furthermore, the average for the first ovulation in GnRH treated Brangus and Nellore cows (exp. 1) were significantly lower when compared with the EB-treated cows (51.4±0.9 vs. 96.6±0.8 and 45.6±13.9 vs. 81.7±7.2 days, respectively, $p < 0.01$). In experiment 2 on average (±SEM) the first ovulation post-partum BE (87.7±0.2); BE-RB (20.3±0.2); BE-SUPL (60.3±0.2); GnRH (40.4±0.1); GnRH-RB (21.0±0.1); GnRH – SUPL (26.4±0.1); LH (35.6±0.1); Controle (60.9±0.1). There were significant differences between groups EB vs. EB-SUPL; EB vs. EB-CR; EB vs. Control; BE vs. GnRH; GnRH vs. GnRH-SUPL; GnRH vs. GnRH-CR, and there was a tendency between LH vs. Control ($p=0.10$). Data from both experiments demonstrate the occurrence of induced LH surge at least one week before the LH surge that was responsible for the first postpartum ovulation. The results indicate that from the second week postpartum there is sufficient LH in the pituitary to induce ovulation after GnRH or EB administration. However, the cows from EB group ovulated later than the animals from the other groups, possibly due to sensitivity of the hypothalamus to negative feedback of estrogens, inhibiting the pre-ovulatory LH surge. Additionally, calf removal and food supplementation reduced in 2 to 4 weeks the time of the first postpartum ovulation induced by GnRH or EB.

Keywords: Anestrus; GnRH; postpartum; LH; *Bos indicus*; Nellore

Capítulo 1

Introdução e Objetivos

Revisão da Literatura

Referências

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Introdução e objetivos

Acima de 50% do rebanho bovino mundial se encontra nos trópicos e são submetidos a temperaturas mais altas do que animais que habitam climas temperados. A raça Nelore (*Bos indicus*) é predominante no Brasil (90 milhões de cabeças; ACNB, 2006) e está se tornando mais popular em outros países tropicais e subtropicais (Bo et al., 2003), devido a sua maior resistência a altas temperaturas, umidade e parasitas, quando comparada às raças européias (*Bos taurus*, Hansen, 2001; Barros et al. 2006, Sartori et al. 2010).

Um dos principais fatores limitantes para a produção pecuária é o longo período de anestro pós-parto observado em zebuínos mantidos em pastagens tropicais. Este período estende desde o parto até o aparecimento do primeiro estro. Neste período ocorre à involução uterina e o restabelecimento da atividade ovariana (Hafez, 2004).

Segundo Nett et al. (1988), o período pós-parto seria o período de transição durante o qual a funcionalidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal-uterino se recupera da gestação anterior. A nutrição e a amamentação são importantes fatores, mas outros fatores também contribuem para a duração do anestro pós-parto, entre eles, podem-se destacar a estação do ano, idade da vaca (número de partos), raça, presença de touros (Short et al., 1990), estresse, doenças, partos gemelares, distocia e retenção de placenta (Yavas & Walton, 2000a).

A pulsatilidade e a concentração sanguínea de FSH aumentam logo após o parto, por volta do quarto dia (Willams et al., 1983) e posteriormente mantém padrão semelhante ao de vacas cíclicas (Willams et al., 1982). A secreção de FSH requer uma estimulação mínima de GnRH e sua liberação é controlada principalmente por efeito de retroalimentação dos esteróides ovarianos. Como a secreção de GnRH não é totalmente suprimida, a retomada precoce dos pulsos de FSH ocorre devido à baixa frequência inicial dos pulsos de GnRH, enquanto que, os pulsos de LH reiniciam relativamente mais tarde no pós-parto, quando a frequência dos pulsos de GnRH aumenta (Lamming et al., 1981). O padrão pulsatil de liberação do LH pós-parto se caracteriza por baixa frequência, menos de um pulso de LH a cada quatro horas (Williams et al., 1983). Essa frequência aumenta durante o período imediatamente anterior à ovulação até aproximadamente um pulso de LH a cada uma ou duas horas

(Schallenberger & Prokopp, 1985, Duffy, 2000; Crowe,1993, 2008). Vários fatores afetam a secreção de LH e a função ovariana em vacas no pós-parto, dentre os principais pode-se destacar o escore de condição corporal, a condição nutricional (Wright et al., 1991), balanço energético (Canfield and Butler, 1990) e freqüência de amamentação (Lamiming et al., 1982). Em novilhas de corte, Murphy et al., (1990) demonstraram que a condição nutricional afetou o diâmetro do folículo dominante. Nesse estudo novilhas submetidas à alta ingestão alimentar apresentaram folículos dominantes significativamente maiores que novilhas alimentadas com dietas para manutenção ou abaixo da manutenção. Além disso, as dietas nutricionais oferecidas aos bovinos em países tropicais são na maioria das vezes pastagens tropicais com baixos níveis protéicos e energéticos, não sendo suficientes para suprir a demanda metabólica das vacas logo após o parto. Desta forma, as vacas pós-parto entram em acentuado balanço energético negativo, o que leva a um retardo no restabelecimento do estro.

A liberação de FSH e o desenvolvimento do folículo dominante iniciam logo após o parto, porém esses folículos não atingem a maturação final, um pré-requisito para a ovulação, devido à ausência de pulsos apropriados de LH, desta forma, os folículos tornam-se atrésicos (Yavas & Walton, 2000a; Crowe, 2008). A formação do primeiro folículo dominante ocorre geralmente de dez a doze dias pós-parto em vacas de corte e de leite (Murphy et al., 1990; Savio et al., 1990a; Crowe et al., 1993; Stagg et al., 1995; Sartori and Barros, 2010). Em vacas de corte com bezerro ao pé a ciclicidade geralmente é restabelecida dentro de 35 a 60 dias pós-parto em animais que apresentam escores de condição corporal adequados, podendo este período se estender em condições desfavoráveis (Yavas & Walton, 2000b; Crowe, 2008). Na grande maioria das vezes a primeira ovulação pós-parto ocorre sem a manifestação de estro (Savio et al., 1990a; Murphy et al., 1990; Looper et al., 1997), devido ao fato de que a capacidade do FD, em produzir estradiol, está limitada durante o período de anestro pós-parto (Spicer et al., 1986).

Em vacas de corte amamentando a detecção do primeiro folículo dominante por ultrassonografia occorreu em média 10,2 dias após o parto. Observou-se também, que apenas 10% dos animais ovularam o folículo dominante da primeira onda de crescimento folicular (Murphy te al., 1990).

Além disso, os animais deste estudo apresentam em média 3,2±0,2 ondas de crescimento folicular antes da primeira ovulação pós-parto (Murphy et al. 1990).

Geralmente a primeira ovulação pós-parto é seguida por um ciclo estral curto e não é precedida pela manifestação de estro em 80 a 90% das vacas de corte (Stagg et al., 1995). A fase luteal, após a primeira ovulação pós-parto geralmente tem duração de 8 a 12 dias, independente se foi espontânea (Looper et al., 1997; Duffy, 2000) ou induzida por desmame precoce, GnRH ou hCG (Short et al., 1990). O ciclo curto é composto por uma única onda de crescimento folicular, corpo lúteo de diâmetro menor e baixas concentrações circulantes de progesterona quando comparado ao ciclo estral normal (Yavas & Walton, 2000b).

Stagg et al. (1998) sugeriram que o comportamento maternal é mais importante que o ato da sucção em si para regular a frequência de pulsos de LH. A percepção inguinal do bezerro pela vaca durante a sucção, aumenta a sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo ao efeito de retroalimentação negativa do 17β-estradiol ovariano, pela liberação de peptídeos de ópioides endógenos pelo hipotálomo (Stevenson et al., 1994), ocasionando a supressão da liberação de pulsos de LH, falha no desenvolvimento final do FD e da ovulação, proporcionando a manutenção do anestro pós-parto.

O efeito supressivo da amamentação parece influenciar a duração do período pós-parto do momento em que os estoques de LH hipofisário se recompõem (15 a 30 dias pós-parto) até aproximadamente 45 dias pós-parto. O desmame ou as interrupções temporárias da amamentação possuem pouca influência sobre o intervalo pós-parto quando praticadas fora desse período (Yavas & Walton, 2000b, Crowe, 2008).

Williams et al., (1983) verificaram aumento nos pulsos de LH em vacas que tiveram os bezerros removidos por 48 horas comparadas àquelas que ficaram juntas com seus bezerros (3,0±0,6 vs. 1,2±0,3 pulsos em 6 horas, respectivamente). Adicionalmente, Meneghetti et al. (2001) observaram que a remoção temporária de bezerro (RTB) por 48 horas proporcionou aumento do maior folículo ovariano, e por sua vez o diâmetro do maior folículo influenciou a taxa de ovulação nos animais em anestro que sofreram estímulo exógeno (GnRH) para ovulação (85,4 vs. 51,0%, para os grupos com ou sem RTB,

respectivamente).

Quintans & Vazquez (2002), relataram taxa de ovulação de 33% e 66% após RTB por 96 h e 144 h, respectivamente. Além disso, a RTB associado a administração de GnRH, foi eficiente em induzir a ovulação (100%, n=12). Em outro estudo, Carruthers *et al.* (1977) observaram que vacas que foram submetidas a remoção de bezerro apresentaram pico de LH sete dias após o parto, porém as vacas amamentando não apresentaram pico de LH neste período. Além disso, a amamentação reduziu as concentrações de prolactina no fluído intrafolicular e inibiu a liberação de LH da hipófise após a administração de GnRH em vacas de corte (Kaltenbach and Dunn, 1980).

Alguns autores (Randel *et al*., 1978; Rhodes *et al*.,1984) observaram menores concentrações de LH em vacas da raça Brahman (*Bos indicus*), na ocorrência do pico pré-ovulatório, quando comparadas às da raça Hereford (*Bos taurus*; 20,2ng/ml e 113,2ng/ml, respectivamente). Além disso, D'occhio *et al.* (1990) reportaram que vacas Brahman possuem menores concentrações de LH na hipófise quando comparadas a vacas Hereford Shorthorn (Bos taurus), aos 39 e 50 dias pós-parto. Por outro lado, não observaram diferença nas concentrações de LH entre estas duas raças aos 18 e 29 dias pós-parto. Neste mesmo estudo os autores verificaram que vacas da raça Brahman apresentaram menor freqüência na pulsatilidade de LH quando comparadas a vacas Hereford Shorthorn aos 29, 39 e 50 dias pós-parto.

Devido à falta de informações na literatura com relação ao restabelecimento dos estoques de LH na hipófise em vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) no período pós-parto, objetivou-se com o presente trabalho verificar em que período do pós-parto ocorre o restabelecimento dos estoques de LH, avaliados pela responsividade do eixo hipotalámico-hipofisário a administração exógena de GnRH ou BE. Além disso, foi avaliada a influência da suplementação alimentar e da presença de bezerro na duração do anestro pós-parto em vacas Nelore.

REVISÃO DE LITERATURA

Foliculogênese e Dinâmica Folicular

Os folículos encontrados nos ovários de uma fêmea púbere podem ser classificados em: primordiais em repouso (primário); pré-antrais em crescimento (secundários); antrais em maturação (terciários) e folículo pré-ovulatório (Graaf, Woolums & Peter, 1994).

O início do crescimento folicular (ativação) inicia-se com a transformação das células planas da pré-granulosa do folículo primordial em uma única camada de células da granulosa cubóides, formando o folículo primário. O folículo secundário surge a partir da proliferação das células da granulosa em duas a seis camadas ao redor do ovócito. Ambos são folículos pré-antrais. O passo seguinte da foliculogênese é a formação do antro, a partir da secreção do fluido folicular pelas células da granulosa (Lussier et al., 1987; Braw-Tal et al.,1997).

O fluido folicular é um meio de suporte nutricional e de desenvolvimento do ovócito, bem como um veículo no qual o ovócito é transportado para a tuba uterina durante a ovulação (Woolums & Peter, 1994). O fluido é rico em glicoproteínas, como a inibina (inibe a secreção de FSH e o crescimento dos folículos subordinados, Dekrester & Robertson, 1989; Rice, 1991); a folistatina (suprime a liberação de FSH e se liga a ativina bloqueando sua atividade) e a ativina (estimula a síntese e/ou a liberação do FSH, Knight, 1996).

O processo contínuo de crescimento e regressão dos folículos antrais ovarianos que induzem o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório é conhecido como dinâmica folicular, enquanto que o padrão de crescimento e atresia de um grupo de folículos ovarianos é denominado onda de crescimento folicular (Lucy et al., 1992). O crescimento folicular em padrão de ondas ocorre em todos os estágios da vida de uma fêmea, como no período anterior à puberdade (Adams et al., 1992) durante a gestação (Ginther et al., 1996b; Taylor & Rajamahendran, 1991), no pós-parto (Murphy et al., 1990; Savio et al., 1990a, b) e até a senilidade (Hafez, 2004). Em bovinos, são necessários cerca de três meses para que folículos pré-antrais (folículo primordial) cresçam até o estágio de folículo pré-ovulatório (Webb et al., 2003).

A dinâmica de crescimento folicular dos bovinos tanto de raças zebuínas (*Bos indicus*) como taurinas (*Bos taurus*) é caracterizada pela presença de

duas ou três ondas de crescimento folicular (Savio et al., 1988; Sirois & Fortune, 1988; Ginther et al., 1989; Figueiredo et al., 1997; Viana et al., 2000; Sartorelli et al., 2005; Castilho et al., 2007; Gimenes et al., 2008) e, esporadicamente, uma ou quatro ondas (Murphy et al., 1990; Viana et al., 2000).

A emergência da onda folicular, também denominada de recrutamento folicular, consiste na emergência simultânea de um grupo de folículos com diâmetro de aproximadamente 4 a 5 mm (Ginther et al., 1996a), estimulados por um aumento transitório do FSH (Fortune, 1993). Mais recentemente, com o avanço na qualidade dos aparelhos de ultrassonografia acoplados a transdutores de 9,0 MHz, foi possível a visualização de folículos com diâmetro a partir de 1,0 mm (Jaiswal, et al., 2004; Ereno, 2008), observando-se a emergência da onda folicular cerca de 12 (Ereno, 2008) ou 48 (Jaiswal, et al., 2004) horas antes da ovulação.

Aproximadamente três dias após a emergência folicular (folículos com 4-5 mm), quando o maior folículo atinge o diâmetro médio de 8,5 mm para *Bos taurus* (Ginther et al., 1996a) e cerca de 6,0 mm para *Bos indicus* (Sartorelli et al., 2005; Gimenes et al., 2008; Ereno, 2008), ocorre o evento denominado de desvio folicular, momento em que ocorre uma diferença na taxa de crescimento entre os dois maiores folículos da onda (Ginther et al., 1996a, 1997).

Na presença de um corpo lúteo (CL) funcional e de níveis elevados de progesterona, esse primeiro folículo dominante (FD) não é capaz de induzir ao pico de LH, e nem provocar estro comportamental e ovulação (Fortune, 1993). Segundo Roberson et al. (1989), na presença de altas concentrações plasmáticas de progesterona há decréscimo na freqüência de pulsos de LH. Desta forma, o FD perde dominância, sofre atresia e não ovula. Ao redor do décimo dia do ciclo estral ocorre a emergência da segunda onda de crescimento folicular e o processo se reinicia. O FD desta segunda onda regride, se houver três ondas de crescimento folicular, ou ovula se o ciclo estral for de duas ondas.(Ginther et al., 1989).

Nas raças européias (*Bos taurus*) o estro dura cerca de 16 a 18 horas e a ovulação ocorre, em média, entre 28 e 30 horas após o início do estro (Galina; Artthur, 1990), ou seja, entre 10 a 12 horas após o final do estro (Hansel; Echternkamp, 1972). Por outro lado, em zebuínos, a receptividade

sexual é, em média, de apenas 11 horas (Mukasa-Mugerwa, 1989; Galina; Arthur, 1990). Pinheiro et al. (1998), utilizando a técnica de ultrassonografia, verificaram que o intervalo entre o início do estro e a ovulação era de 26,6±0,44 horas e a duração do cio de aproximadamente 11 horas em vacas Nelore, com estro natural ou induzido por tratamentos hormonais. Estes resultados foram confirmados por Mizuta (2003) utilizando o sistema Heat-Watch para detectar o estro e a ultrassonografia para observar a ovulação. Além dos zebuínos apresentarem estro de menor duração em relação às raças européias, existe uma elevada incidência de estro no período noturno (30 a 50%), o que dificulta ainda mais a detecção do estro nos zebuínos (Pinheiro et al., 1998).

O crescimento e a atresia foliculares são influenciados por raça (Figueiredo et al., 1997), estágio reprodutivo (Roche & Boland, 1991), época do ano (Badinga et al., 1994), estresse calórico (Wilson et al., 1998), balanço energético (Rhodes et al., 1995) e escore da condição corporal (ECC) (Burke et al., 1998).

Anestro Pós-parto

O anestro pós-parto é o período que estende desde o parto até o aparecimento do primeiro estro, sendo caracterizado por ausência de manifestação estral. Neste período ocorre a involução uterina e o restabelecimento da atividade ovariana (Hafez, 2004). Sendo este o principal fator que contribui para o aumento do intervalo entre partos em bovinos de corte.

A amamentação e a nutrição são os principais fatores, mas outros também contribuem para a duração do anestro pós-parto, entre eles pode-se destacar a estação do ano, idade da vaca (número de partos), raça, presença de touros (Short et al., 1990), estresse, doenças, partos gemelares, distocia e retenção de placenta (Yavas & Walton, 2000a) e a variação individual. Segundo Yavas & Walton (2000a), o anestro pós-parto seria o período de transição durante o qual a funcionalidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal-uterino se recupera da gestação anterior.

A pulsatilidade e a concentração sanguínea de FSH aumentam logo após o parto, por volta do quarto dia (Willams et al., 1983) e posteriormente mantém padrão semelhante a vacas cíclicas (Willams et al., 1982). A secreção de FSH

requer estimulação mínima de GnRH e sua liberação é controlada principalmente por efeito de retroalimentação dos esteróides ovarianos. Como a secreção de GnRH não é totalmente suprimida, a retomada precoce dos pulsos de FSH ocorre devido à baixa frequência aos pulsos iniciais de GnRH, enquanto que, os pulsos de LH reiniciam relativamente mais tarde no pós-parto, quando a frequência dos pulsos de GnRH aumenta (Lamming et al., 1981). O padrão pulsatil de liberação do LH pós-parto se caracteriza por baixa frequência, menos de um pulso de LH a cada quatro horas (Williams et al., 1983). Essa frequência aumenta durante o período imediatamente anterior a ovulação até aproximadamente um pulso de LH a cada uma ou duas horas (Schallenberger & Prokopp, 1985).

Mais recentemente, foi descoberto que um polipeptídeo, denominado de "kisspeptina" (um produto de 54 aminoácidos sintetizado a partir do gene *Kiss1*), é o responsável por esse estímulo direto, mediante a ligação com o receptor GPR54 (acoplado à proteína G) que está presente na superfície de neurônios secretores de GnRH. A transcrição e tradução do gene *Kiss1* em kisspeptina é realizada por neurônios específicos que não aqueles secretores de GnRH, sendo estimuladas positivamente (nos neurônios localizados no núcleo periventricular anteroventral; AVPV) ou negativamente (em neurônios do núcleo arqueado; ARC) pelo estradiol (Smith, 2006; Nogueira & Barros, 2009).

Desse modo, a ligação do estradiol com o seu receptor ERα nos neurônios *Kiss1* induziria a secreção ou a inibição da kisspeptina (na dependência do núcleo estimulado – AVPV ou ARC – pelo estradiol). Sob baixas concentrações de estradiol, a kisspeptina (sintetizada pelo núcleo ARC) se ligaria ao receptor GPR54 dos neurônios GnRH (por contato sináptico na área pré-óptica), estimulando a liberação do GnRH e, consequentemente, das gonadotrofinas hipofisárias. Em última análise, as gonadotrofinas estimulariam o aumento do estradiol secretado pelos folículos antrais em crescimento, e o "circuito" seria fechado mediante a retroalimentação positiva dos neurônios *Kiss1* do núcleo AVPV (implicando na geração do pico pré-ovulatório de GnRH/LH nas fêmeas, Nogueira & Barros, 2009).

Nas primeiras três semanas após o parto ocorre o início do crescimento de ondas foliculares, a involução uterina e a reposição dos estoques

hipofisários de LH. A liberação de FSH e o desenvolvimento do FD iniciam logo após o parto, porém esses folículos não atingem a maturação final, um pré-requisito para a ovulação, devido a ausência de pulsos apropriados de LH, desta forma, os folículos tornam-se atrésicos (Yavas & Walton, 2000a, Duffy et al. 2000).

Crescimento folicular durante a gestação.

Durante a gestação, ocorre o crescimento folicular continuo nos dois terços iniciais (Ginther et al., 1989, 1996) com intervalos regulares de 7 a 10 dias. No final da gestação (últimos 22 dias), o feedback negativo da progesterona proveniente principalmente do CL e parte de origem placentária e os estrógenos proveniente principalmente da placenta suprimem o aumento recorrente de FSH responsáveis pelo estimulo do crescimento folicular (Ginther et al., 1996; Crowe et al., 1998). Desta forma, os ovários ficam quiescentes durante os últimos 20 – 25 da gestação.

Primeira ovulação pós-parto, luteólise e ciclo curto

A formação do primeiro FD ocorre geralmente de dez a doze dias pós-parto em vacas de corte e de leite (Murphy et al., 1990; Savio et al., 1990a; Stagg et al., 1995). Em vacas de corte com bezerro ao pé a ciclicidade geralmente é restabelecida dentro de 35 a 60 dias pós-parto em animais que apresentam ECC adequados, podendo este período se estender em condições desfavoráveis (Yavas & Walton, 2000b). Na grande maioria das vezes a primeira ovulação pós-parto ocorre sem a manifestação de estro (Savio et al., 1990a; Murphy et al., 1990; Looper et al., 1997), devido ao fato da capacidade do FD, em produzir estradiol, está limitada durante o período de anestro pós-parto (Spicer et al., 1986).

Em vacas de corte com bezerro ao pé observou-se que apenas 10% dos animais ovularam o FD da primeira onda de crescimento folicular (Murphy te al., 1990) e a maior parte dos animais apresentam várias ondas de crescimento folicular antes da primeira ovulação (Stagg et al., 1995; Henao et al., 2000).

Geralmente a primeira ovulação pós-parto é seguida por um ciclo estral curto e não é precedida pela manifestação de estro em 80 a 90% das vacas de

corte (Stagg et al., 1995). A fase luteal, após a primeira ovulação pós-parto geralmente tem duração de 8 a 12 dias, independente se foi espontânea (Looper et al., 1997) ou induzida por desmame precoce, GnRH ou hCG (Short et al., 1990). O ciclo curto é composto por uma única onda de crescimento folicular, CL de diâmetro menor e baixas concentrações circulantes de progesterona quando comparado ao ciclo estral normal (Yavas & Walton, 2000b).

Stagg et al. (1998) observaram a ocorrência de ciclos curtos (< 16 dias) após a primeira ovulação em 85% das vacas, enquanto que 12% das vacas tiveram ciclos de duração normal (18-24 dias) e 3% de ciclos longos (>24 dias). Quando compararam vacas inseminadas na primeira ovulação pós-parto com vacas inseminadas após o primeiro estro precedido de um ciclo curto, observaram taxas de concepção de 41 e 76% ($p<0,05$), respectivamente.

Em bovinos e ovinos a lise do corpo lúteo é causada pela liberação de prostaglandina F2α (PGF2α) endometrial no final da fase luteal, dando origem a um novo ciclo estral (Horton & Poyser, 1975). O sinal hormonal que leva à liberação de PGF2α em quantidades luteolíticas é o estradiol proveniente dos folículos ovarianos. McCracken et al., (1984) propuseram que o estradiol age estimulando a síntese de receptores para ocitocina no endométrio de ovelhas, e que a ocitocina, proveniente do corpo lúteo ou da neuro-hipófise, estimula a secreção de PGF2α. Esta hipótese foi confirmada por trabalhos que demonstram a síntese de ocitocina pelo corpo lúteo bovino (Wathes et al., 1983) e sua interação com receptores endometriais próprios (Fuchs et al., 1990) estimulando desta forma a secreção de PGF2α pelo tecido endometrial, tanto "*in vivo*" (Putney et al., 1989) quanto "*in vitro*" (Gross et al., 1988). Este processo, denominado luteólise, é caracterizado pela queda na produção de progesterona e fragmentação dos componentes celulares, incluindo a redução do suporte vascular, proliferação do tecido conjuntivo, desorganização celular, degeneração e fagocitose das células luteais (Milvae et al., 1996). Como resultado, ocorre queda nas concentrações plasmáticas de progesterona (<1 ng/mL), permitindo a ovulação do folículo dominante desencadeada por meio do pico pré-ovulatório de LH. A regressão prematura do CL, após a primeira ovulação pós-parto, ocorre devido a liberação precoce de $PGF_{2\alpha}$ pelo endométrio, devido a maior concentração de receptores de

ocitocina neste local em animais que apresentam ciclo curto. A exposição previa a altos níveis de progesterona inibe o número dos receptores de ocitocina no endométrio e previne o ciclo curto (Zoolers et al., 1993). Acredita-se que, após o parto, as vacas necessitem de um primeiro contato com a progesterona ("*priming*") para que se desenvolva um corpo lúteo com vida funcional normal (Hunter, 1991; Garverick et al., 1992; Yavas & Walton, 2000b; Satrapa et al, 2009).

Mann & Lamming (2000) propuseram que a vida curta do primeiro CL pós-parto está relacionada ao fato do folículo dominante não se desenvolver o suficiente para produzir elevadas concentrações de estradiol, que seriam responsáveis pela diminuição ("down regulation") dos receptores do próprio estradiol no endométrio uterino. Se houver disponibilidade de receptores no endométrio uterino, a interação do estradiol com os mesmos desencadeará a síntese de receptores de ocitocina no endomério que, ao interagirem com a ocitocina, resultarão na síntese de PGF2α no endométrio uterino e lise prematura do corpo lúteo. Entretanto, Satrapa et al (2009) não confirmaram está hipótese, pois ao administrarem estradiol no período que antecedeu a primeira ovulação pós-parto, não observaram queda na concentração plasmática de PGFM induzida pela administração de ocitocina a partir do dia 6 pós ovulação.

O escore de condição corporal da vaca na parição é correlacionado positivamente com o desenvolvimento folicular precoce no período pós-parto (Ryan et al., 1994), conteúdo pituitário de LH aos 30 dias pós-parto (Connor, et al., 1990) e frequência dos pulsos de LH (Bishop et al., 1994). O metabolismo basal, o crescimento e as reservas basais de energia têm prioridade aos processos reprodutivos, como o início da ciclicidade e o estabelecimento e manutenção da prenhez (Short et al., 1990).

Remoção Temporária de Bezerros (RTB)

A remoção temporária de bezerros tem sido utilizada como um artifício para diminuir o período de anestro pós-parto em programas de sincronização da ovulação em protocolos de IATF.

Stagg et al. (1998) sugeriram que o comportamento maternal é mais importante que o ato da sucção em si para regular a frequência de pulsos de

LH. A percepção inguinal do bezerro pela vaca durante a sucção, aumenta a sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo ao efeito de retroalimentação negativa do 17β-estradiol ovariano, pela liberação de peptídeos de ópioides endógenos pelo hipotálomo (Stevenson et al., 1994), ocasionando a supressão da liberação de pulsos de LH, falha no desenvolvimento final do FD e da ovulação, proporcionando a manutenção do anestro pós-parto. O efeito supressivo da amamentação parece influenciar a duração do período pós-parto do momento em que os estoques de LH hipofisário se recompõem (15 a 30 dias pós-parto) até aproximadamente 45 dias pós-parto. O desmame ou as interrupções temporárias da amamentação possuem pouca influência sobre o intervalo pós-parto quando praticadas fora desse período (Yavas & Walton, 2000b).

Williams et al., (1983) verificaram aumento nos pulsos de LH em vacas que tiveram os bezerros removidos por 48 horas comparadas àquelas que ficaram juntas com seus bezerros (3,0±0,6 vs. 1,2±0,3 pulsos em 6 horas, respectivamente).

Meneghetti et al., (2001) observaram que a RTB por 48 horas proporcionou aumento do maior folículo ovariano, e por sua vez o diâmetro do maior folículo influenciou a taxa de ovulação nos animais que sofreram estímulo exógeno (GnRH) para ovulação (85,4 vs. 51,0%, para os grupos com ou sem RTB, respectivamente). Quintans & Vazquez (2002), relataram taxa de ovulação de 33% (n = 9) e 66% (n = 9) após RTB por 96 h e 144 h, respectivamente. A RTB, juntamente com a administração de GnRH, foi eficiente em induzir a ovulação (100%, n=12).

Vasconcelos et al. (2004) utilizaram a RTB, em vacas Nelore lactantes, antes da inserção do implante intravaginal de progesterona e da primeira aplicação de GnRH (D0) e voltaram a utilizar a RTB após a retirada do implante (D7) até o momento da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e segunda dose de GnRH (D9). Observaram interação ($p<0,05$) entre ciclicidade e a RTB; nas vacas ciclando a RTB diminui a taxa de concepção (29,9% vs. 61,0%). Porém, nos animais em anestro pós-parto a RTB melhorou a taxa de concepção (53,8% vs. 35,3%).

A condição corporal (Albeiro et al., 1984), a idade dos bezerros no ato da separação (Bonavera et al., 1990) e o estágio do desenvolvimento folicular

(Sinclair et al., 2002) são fatores que estão envolvidos na variabilidade de resposta da remoção temporária dos bezerros.

Estratégicas farmacológicas utilizadas no tratamento do anestro pós-parto.

A ação da progesterona na sincronização do ciclo estral em bovinos tem sido relatada há décadas (Lamond, 1964; Gordon, 1976). Os animais recebiam doses diárias de progesterona por períodos de até 20 dias. Estes tratamentos resultavam em altas taxas de sincronização do estro, no entanto apresentavam baixa fertilidade, além de serem pouco práticos (Macmillan e Peterson, 1993). Com o passar do tempo foram desenvolvidos métodos mais práticos de administração de progesterona com a utilização de dispositivos (intravaginais ou auriculares) liberadores de progesterona/progestágenos (Bo et al., 2003; Barros & Ereno, 2004; Baruselli et al 2004).

As concentrações de progesterona/progestágenos liberadas pelos dispositivos, estão abaixo das encontradas na fase luteal, o que permite aumento na pulsatilidade de LH, ocasionando maior crescimento do folículo dominante e consequentemente maior produção de estradiol, resultando na ovulação do mesmo em 75 a 100% das vacas, após a retirada do dispositivo (Savio et al., 1993; Fortune, 1994; Yavas & Walton, 2000a). Anderson & Day (1998) propuseram que a exposição à progesterona reduz a concentração de receptores de E2 no hipotálamo, amenizando a retroalimentação negativa sobre a liberação de GnRH, em vacas pre-púberes e em anestro pós-parto, possibilitando aumento na secreção de LH.

A exposição à progesterona, mesmo por curtos períodos de tempo (7 a 10 dias), na ausência de um CL pode resultar em reduzida fertilidade pela ocorrência de folículos persistentes (Austin et al., 1999). Portanto, é necessário induzir a atresia ou a ovulação do folículo dominante presente no ovário, no momento da colocação do dispositivo, o que pode ser obtido pela administração de estradiol ou GnRH (Bo et al., 2003).

Bó e colaboradores (1995, 2003) demonstraram que a associação de estrógenos a dispositivos que liberam progesterona/progestágeno promove atresia do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de

crescimento folicular cerca de 4 dias após a aplicação destes esteróides . A regressão do CL é alcançada pela aplicação de estradiol no início do tratamento ou pela administração de PGF2α no momento da remoção do implante. Esta possibilidade de sincronizar a onda de crescimento folicular, por meio do uso concomitante de progesterona/progestágenos e estrógenos, possibilitou o desenvolvimento de vários protocolos hormonais, especialmente úteis para realização de IATF em animais que se encontram em anestro e, portanto, não respondem bem a protocolos que não utilizam progesterona exógena (Bo et al., 2003; Barros & Ereno, 2004; Baruselli et al.,2003, 2005; Pinheiro et al. 2006, 2009).

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P., MATTERI, R. L., KASTELIC, J. P., KO, J. C. H., GINTHER, O. J. Association between surges of FSH and emergence of follicular waves in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, Cambrige, v.94, p.177-88, 1992.

ALBEIRO, R.H., BUTLER, H.M., PALMA, G., SCHIERSMANN, G., ALGORTA, D., ORTIZ, A. Reproductive behaviour and fertility after a temporary weaning in multiparous beef cows with different body condition. **Rev. Arg. Prod. Anim**., v.4 (5), p.555–566, 1984.

ANDERSON, L.H., DAY, M.L. Development of a progestin-based estrus synchronization program: Reproductive response of cows fed melengestrol acetate for 20 days with an injection of progesterone. **J. Anim. Sci.**, v.76, p.1267-1272, 1998

ASSOCIAÇÃO DOS CRIADORES DE NELORE DO BRASIL – ACNB, 2005, acesso10/07/2006, **hpp://www.nelore.org.br**.

AUSTIN J.E., MIHM M., RYAN M.P., WILLIAMS D.H., ROCHE J.F. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **J. Anim. Sci**., v.77, p.2219-26, 1999.

BADINGA, L., THATCHER, W.W., WILCOX, C.J., MORRIS, G., ENTWISTLE, K., WOLFENSON, D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol 17β, progesterone and luteinizing in lactating Holstein cows. **Theriogenology**, New York, v.42, n. 8, p.1263-1274, 1994.

BARROS, C.M., ERENO, R.L. Avanços em tratamentos hormonais para inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Act. Sci. Vet.**, supl.32, p.23-34, 2004.

BARROS, C.M., PEGORER, M.F., VASCONCELOS, J.L.M., EBERHARDT, B.G.,MONTEIRO, F.M. Importance of sperm genotype (indicus versus taurus) for fertility and embryonic development at elevated temperatures. **Theriogenology**, v.65(1);210-8; 2006.

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

BARUSELLI, P.S., REIS, E.L., MARQUES, M.O., NASSER, L.F., BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Anim. Reprod. Sci.**, v.82-83, p.479-486, 2004.

BARUSELLI, P.S., BO, G.A., REIS, E.L., MARQUES, M.O., SÁ FILHO, M.F. Introduction de la IATF em el manejo reproductivo de rebaños de ganado de engorde em Brasil. **Congreso Internacional de Reproducción Bovina**, Bogotá – Colombia, p.125-127, 2005.

BISHOP, G.M.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J. Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. **J. Anim. Sci.**, v.72, p.2703-2708, 1994.

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

BO, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in Bos Indicus cattle**. Anim. Reprod. Sci.,** v.78, p.307-326, 2003.

BONAVERA, J.J., SCHIERSMANN, G.C.S., ALBERIO, R.H., MESTRE, J. A note on the effects of 72-hour calf removal and/or bull exposure upon postpartum reproductive performance of Angus cows. **Anim. Prod**., v.50, p.202–206, 1990.

BRASIL, **Estatísticas da Pecuária.** Brasília, 2005. In: Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br. Acesso em: 13/03/ 2007.

BRAW-TAL, R., YOSSEFI, S. Studies in vivo and in vitro on the initiation of the follicle growth in the bovine ovary. **J. Reprod. Fertil.,** v.109, p. 165-171, 1997.

BURKE, J.M., HAMPTON, J.H., STAPLES, C.R., THATCHER, W.W. Body condition influences maintenance of a persistent first wave dominant follicle in dairy cattle. **Theriogenology**, New York, v.49, n.4, p.751-760, 1998.

CANFIELD, R.W., BUTLER, W.R. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. **Domest Anim Endocrinol**. v. 7, p.323-30, 1990.

CARRUTHERS, T.D., KOSUGIYAMA, M. AND HAFS, H.D. Effect of suckling on interval to first postpartum ovulation and serum luteinizing hormone and prolactin in Holsteins. **J. Anim. Sci.** Supplement 45, p. 142 (abstract).

CASTILHO, C., GARCIA, J.M., RENESTO, A., NOGUEIRA, G.P., BRITO, L.F. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (Bos indicus) heifers**. Theriogenology.,** v.98, p.189-196, 2007.

CONNOR, H.C., HOUGHTON, P.L., LEMENAGER, R.P., MALVEN, P.V., PARFET, J.R., MOSS, G.E. Effect of dietary energy, body condition and calf removal on pituitary gonadotropins, gonadotropins-releasing hormone (GnRH) and hypothalamic opioids in beef cows. **Domest. Anim. Endocrinol**., v.7, p.403-411, 1990.

CROWE, M.A., GOULDING, D., BAGUISI, A., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. **J. Reprod. Fertil**. v. 99 (2), p. 551-5, 1993.

CROWE, M.A., PADMANABHAN, V., MIHM, M., BEITINS, I.Z., ROCHE, J.F. Resumption of follicular waves in beef cows is not associated with periparturient changes in follicle-stimulating hormone heterogeneity despite majar changes in steroid and luteinizing hormone concentrations. Biol. Reprod. v. 58(6), p. 1445-50, 1998.

CROWE, M.A., Review Article, Resumption of Ovarian Cyclicity in Post-partum Beef and Dairy Cows. **Reprod. Dom. Anim**. v.43 (Suppl. 5), p. 20–28, 2008.

DEKRESTER, D.M., ROBERTSON, P.M. The isolation and physiology of inhibin and related proteins. **Biol. Reprod.,** v.40, p.33-47, 1989.

D'OCCHIO, M.J., NEISH, A. and BROADHURST, L. Differences in gonadotrophin secretion postpartum between zebu and European breed cattle. **Anim. Reprod. Sci**. V.22, p.311-7, 1990.

DUFFY, P., CROWE, M.A., BOLAND, M.P., AND ROCHE, J.F. Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. **J. Reprod. Fertil**., v. 22, p.9-17, 2000.

ERENO, R.L. Expressão gênica do receptor do hormônio luteinizante (LHR), em células da granulosa de folículos de novilhas Nelore antes, durante e após a divergência folicular. 2008. 65p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FIGUEIREDO, R.A., BARROS, C.M., PINHEIRO, O.L., SOLER, J.M.P. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos indicus*). **Theriogenology***,* v.47, p.1489-505, 1997.

FORTUNE, J.E. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility? **Anim. Reprod. Sci.**, v.33, p.111–125, 1993.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biol. Reprod**., v.50, p.225–232, 1994.

FUCHS, A.R., BEHRENS, O., HELMER, H. et al. Oxytocin and vasopressin receptors in bovine endometrium and myometrium during the estrus cycle and early pregnancy. **Endocrinology**, v.127, p.629-36,1990.

GALINA, C.S., ARTHUR, G.H., Review on cattle reproduction in the tropics. Part4. Oestrus cycles. **Anim. Breed.,** v.58, p.697-707, 1990. (abstract)

GARVERICK, H.A., ZOLLERS, W.G., SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. **Anim. Reprod. Sci.**, v.28, p.111-124, 1992.

GINTHER, O.J., KNOPF, L., KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. **J. Reprod. Fert.,** v.887, p.223-30, 1989.

GINTHER, O.J., WILTBANK, M.C., FRICKE, P.M., GIBBONS, J.R., KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol. Reprod**., Madison, v.55, p.1187-94, 1996a.

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

GIMENES, L.U., SÁ FILHO, M.F., CARVALHO, N.A.T., TORRES-JUNIOR, J.R.S., SOUZA, A.H., MADUREIRA, E.H., TRINCA. L.A., SARTORELLI, E.S., BARROS, C.M., CARVALHO, J.B.P., MAPLETOFT, R.J., BARUSELLI, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology,** v.69, p.852-858, 2008.

GORDON, I. Controlled breeding in cattle. Part.1. Hormones in the regulation, oestral control, and set-time artificial insemination. **Anim. Breed***.,* v.44, p.265-75, 1976. (abstract)

GROSS, T.S., THATCHER, W.W., HANSEN, P.J. et al. Prostaglandin secretion by perifused bovine endometrium: secretion towards the myometrial and luminal sides at day 17 post-estrus as altered by pregnancy. **Prostaglandins**, v.35, p.342-57,1988.

HAFEZ, E.S.E. Reproduction in farm animal. 7. ed. **Philadelphia**, Lea & Febiger, 585p, 2004.

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

HANSEN, P.J., OROST, M., RIVERA, R.M., PAULA-LOPES, F.F., AL-KATANANI, Y.M., KRININGER III, C.E., CHASE JR, C.C. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. **Theriogenology,** v. 55, p. 91-103.2001.

HENAO, G., OLIVEIRA-ANGEL M., MALDONADO, J.G. Follicular dynamics during postpartum anestrus and the first estrous cycle in suckled or non-suckled Brahman (Bos indicus) cows. **Anim. Reprod. Sci.**, Amsterdam, v.63, p.127-136, 2000.

HORTON, E.W., POYSER, N.L. Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandin F2α. **Physiol. Rev.**, v.56, p.595, 1975.

HUNTER, M.G. Characteristics and causes of the inadequate corpus luteum. **J. Reprod. Fertil.**, v.43, p.91-99, 1991.

LAMMING, G.E., WATHES, D.C., PETERS, A.R. Endocrine patterns in the post-partum cow. **J. Reprod. Fert**., v.30, p.155–170, 1981.

LAMOND, D.R. Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. **Anim. Breed.,** v.32, p.269-285, 1964. (abstract)

LOOPER, M.L., LENTS, C.A., VIZCARRA, J.A., WETTEMANN, R.P. Evalution of the effects of body condition on luteal activity and estrus in postpartum beef cows. **J. Anim. Sci.**, Champaign, v.74, n. 1, p.223, 1997. (abstract)

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

LUSSIER, J.G., MATTON, P., DUFOUR, J.J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **J. Reprod. Fertil.,** v.81, p. 301-307, 1987.

MACMILLAN, K.L., BURKE, C.R. Effects of oestrus cycle control on reproductive efficiency. **Anim. Reprod. Sci.,** v.42, p.307-320, 1996.

KNIGHT, P.G. Roles of Inhibins, Activins, and Follistatin in the Female Reproductive System. **Front Neuroendocrinol,** v.17, p.476–509, 1996.

MANN, G.E., LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrus cycle in the cow. **Anim. Reprod. Sci**., v.64, p.171-180, 2000.

MACRACKEN, J.A, SCHRAM, W., OKULICZ, W.C. Homone receptor control of pulsatile secretion of PGF2α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. **Anim. Reprod. Sci**., v.7, p.31-56, 1984.

MEIRELLES, F.V., ROSA, A.J.M., LÔBO, B.R. Is the American Zebu really *Bos indicus* ? **Genetics and Molecular Biology**, v.22, p.543-547, 1999.

MENEGHETTI, M., VILELA, E.R., VASCONCELOS, J.L.M. et al. Efeito da remoção dos bezerros nos folículos dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas Nelore em anestro. **Rev. Bras. Reprod. Anim**., v.25, n.3, p.286-288, 2001.

Mizuta, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, Progesterona e Estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus)*, Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus).*** São Paulo, 2003, 98 p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento de Reprodução Animal – Universidade de São Paulo.

MUKASA-MUGERWA, E. A review of reproductive performance of female *Bos indicus* (Zebu) cattle**. ILCA monog***.,*v.6, p.1-34, 1989.

MURPHY, M.G., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **J. Reprod. Fert***.,* v.90, p.523-33, 1990.

MURPHY, M.G., MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotrophin. **Endocrine Reviews**. v. 12, p. 27-44, 1991.NETT, T.M., CERMAK, D., BRADEN, T., MANNS, J. and NISWENDER, G. Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows.II changes during the postpartum period. Domest. Anim. Endocrinol. V. 5 (1), p.81-89, 1988.

NOGUEIRA, M.F.G; BARROS, C.M. Farmacologia Veterinária. 1ª Ed. São Paulo: Editora Manole, 2009, *in press*.

PINHEIRO, O.L., BARROS, C.M., FIGUEREDO, R.A., VALLE, E.R., ENCARNAÇÃO, R., PADOVANI, C.R. Estrus behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle Bos indicus) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2α or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology***,* v.49, p.667-81, 1998.

PINHEIRO, V.G., SOUZA, A.F., PEGORER, M.F., SATRAPA, R.A., ERENO, R.L., TRINCA, L.A., BARROS, C.M. Effects of temporary calf removal and eCG on pregnancy rates to timed-insemination in progesterone-treated postpartum Nellore cows. **Theriogenology.,** v.71, p.519-24, 2009.

Pinheiro VG, Souza AF, Pegorer MF, Ereno RL, Barros CM. Do temporary calf removal (TCR) and/or eCG administration increase pregnancy rates in lactating nelore cows treated with progesterone release intravaginal device? Reproduction, Fertility and Development 2006;18:117 (abstract).

PURSLEY, J.R., MEE, M.O.K., BROWN, M.D., WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF2α. **J. Anim. Sci***.*, v.72, p.230, 1994.

PUTNEY, D.J., TORRES, C.A.A., GROSS, T.S. et al. Modulation of uterine prostaglandin biosynthesis by pregnant and nonpregnant cows at day 17 post-estrus in response to in vivo and in vitro heat stress. **Anim. Reprod. Sci.,** v.20, p.31-47, 1989.

QUINTANS, G., VÁZQUEZ, A.I. Effect of premature weaning and suckling restriction with nose plates on the reproductive performance of primiparous

cows under range conditions. In: Proceedings of the **Sixth International Symposium in Domestic Ruminants,** Crieff-Scotland, p.14–17, A65, 2002. (abstract)

RANDEL, R.D. S EFFECTS ON FEMALE REPRODUCTIVE FUNCTIONS IN THE BOVINE (INDIAN BREEDS). **Theriogenology,** v.21, p.174-85, 1984.

RICE, C.A. The control of FSH secretion in the larger domestic species. **J. Endocrionol.,** v.131, p.177-84, 1991.

RHODES III, R.C., RANDEL, R.D. and HARMS, P.G. Reproductive studies of Brahman cattle IV. Brahman, Brahman x Hereford and Hereford cows following a 20 mg dose of estradiol-17Bβ. **Theriogenology,** v.10, p.25-55, p.429-37, 1978.

RHODES, F.M., FITZPATRICK, L.A., ENTWISTLE, K.W., DEATH, G. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in Bos indicus heifers before and after nutritional anoestrous. **J. Reprod. Fert.**, Cambridge, v.104, n. 1, p.41-49, 1995.

ROBERSON, M.S., WOLFE, M.W., STUMPF, T.T., KITTOK, R.J., KINDER, J.E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biol. Reprod***.,* v.41, p.997-1003, 1989.

ROCHE, J.F., BOLAND, M.P. Turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states. **Theriogenology**, New York, v.35, n.1, p.81-90, 1991.

RYAN, D.P., SPOON, R.A., GRIFFITH, M.K., WILLIAMS, G.L. Ovarian follicular recruitment, granulose 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 conditions maintained during the puerperium. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v.11, p.161-174, 1994.

SARTORELLI, E.S., CARVALHO, L.M., BERGFELT, D.R., GINTHER, O.J., BARROS, C.M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology,** New York, v.63, p.2382-2394, 2005.

SARTORI. R.; BARROS, C.M. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. **Anim. Reprod. Sci.,** 2011. PMID 21388755 In press.

SATRAPA, RA; PINHEIRO, VG**;** ERENO, RL; MEMBRIVE, CMB; PIAGENTINI, M; BINELLI, M BARROS, CM. **Reprod Dom Anim.,** v.45(5), p. 881-7, 2010.

SAVIO, J.D., KEENAN, L., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. **J. Reprod. Fert.**, v.83, p.663-71, 1988.

SAVIO, J.D., BOLAND, M.P., HYNES, N., ROCHE, J.F. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v.88, p.569-579, 1990a.

SAVIO, J.D., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. Development of dominat follicles and length of ovarian cycles in postpartum dairy cows. **J. Reprod. Fertil.**, Cambridge, v.88, p.581-591, 1990b.

SAVIO, J.D., TATCHER, W.W., BADINGA, L., DE LA SOTA, R.L., WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **J. Reprod. Fertil**., v.97, p.197–203, 1993.

SCHALLENBERGER, E., PROKOPP, S. Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. IV. Re-establishment of the stimulatory feedback action of oestradiol-17-beta on LH and FSH. **Act. Endocrinol**., v.109, p.44–49, 1985.

SHORT, R.E., BELLOWS, R.A., STAIGMILLER, R.B., BERARDINELLI, J.G., CUSTER, E.E., Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **J. Anim. Sci.,** Champaign, v.68, p.799-806, 1990.

SINCLAIR, K.D., MOLLE, G., REVILLA, R., ROCHE, J.F., QUINTANS, G., MARONGUI, L., SANZ, A., MACKEY, D.R., DISKIN, M.G. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 post partum in suckling beef cows. **Anim. Sci**., v.75, p.115–126, 2002.

SIROIS, J., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by Real-Time Ultrasonography. **Biol. Reprod.**, v.39, p.308-17, 1988.

SMITH, J.T., CLIFTON, D.K., STEINER, R.A. Regunation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. **Anim. Reprod. Sci.,** v.131, p.623-630, 2006.

SPICER, L.J., LEUNG, K, CONVERY, E.M., GINTHER, J., SHORT, R.E., TUCKER, H.A. Anovulation in postpartum suckled beef cows. I. Associations among size and numbers of ovarian follicles, uterine involution, and hormones in serum and follicular fluid. **J. Anim. Sci.,** v.62, p.734-741, 1986.

STAGG, K., DISKIN, M.G., SREENAN, J.M., ROCHE, J.F. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. **Anim. Reprod. Sci.**, v.38, p.49-61, 1995.

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

STEVENSON, J.S., KNOPPEL, E.L., MINTON, J.E., SALFEN, B.E. and GARVERICK, H.A. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. **J. Anim. Sci**., v.72, p.690-699, 1994.

TAYLOR, C., RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics and corpus luteum growth and function pregnant versus nonpregnant dairy cows. **J. Dairy Sci.,** v.74, p.115-23, 1991.

VASCONCELOS, J.L.M., PEREZ. G.C., SANTOS, R.M., SA FILHO, O.G. Effects of progesterone intravaginal device and calf removal on conception in suckled Nelore cows. In: **15Th International Congress on Animal Reproduction**, v.15, p.120, 2004. (abstract).

VIANA, J.H.M., FERREIRA, A.M., SÁ, W.F., CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesq. agropec. bras.,** v.35, n.12, p.2501-2509, 2000.

WATHES, D.C., SWANN, R.W., BIRKETT, S.D. et al. Characterization of oxytocin, vasopressin and neurophysin from the bovine corpus luteum. **Endocrinology,** v.113, p.693-8, 1983.

WATHES, D.C., SWANN, R.W., PICKERING, B.T. Variations in oxytocin, vasopressin and neurophysin concentrations in the bovine corpus ovary during the oestous clycle and pregnancy. **J. Reprod. Fertil.,** v.71, p.551-7, 1984.

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

WILLIAMS, G.L., KOTWICA, J., SLANGER, W.D., OLSON, D.K., TILTON, J.E., JOHNSON, L.J. Effect of suckling on pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone throughout the early postpartum period of beef cows**. J. Anim. Sci**., v.54, p.592–602, 1982.

WILLIAMS, G.L., TALAVERA, F., PETERSEN, B.J., KIRSCH, J.D., TILTON, J.E. Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone. **Biol. Reprod.,** v.29, p.362–373, 1983.

WILSON, S.J., MARION, R.S., SPAIN, J.N., SPIERS, D.E., KEISLER, D.H., LUCY, M.L. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1. Lactating cows. **J. Dairy Sci.,** Champaign, v.81, n.8, p.2124-2131,1998.

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

WOOLUMS, A.R., PETER, A.T. Cystic ovarian condition in cattle: Part I. Folliculogenesis and ovulation. **Compend. Cont. Educ. Article**, v.16, p.935-43, 1994.

WRIGHT, I.A., RHIND, S.M., SMITH, A.J., WHYTE, T.K. Effects of body condition and estradiol on luteinizing hormone secretion in post-partum beef cows. **Domest Anim Endocrinol**., v. 9, p.305-12,1992.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology,** New York**,** v.54, p.1-23, 2000a.

YAVAS, Y., WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology,** New York**,** v.54, p.25-55, 2000b.

ZOOLERS, W.G. JR., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected o have a short or normal oestrus cycle. **J. Reprod. Fertil***.,* v.97, p.329-337, 1993.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA RESPONSIVIDADE HIPOTALAMICA – HIPOFISÁRIA DURANTE O PÓS-PARTO EM VACAS NELORE

Este artigo científico está de acordo com as normas para publicação na revista Theriogenology, exceto a apresentação das figuras, tabelas e o idioma

AVALIAÇÃO DA RESPONSIVIDADE HIPOTALAMICA-HIPOFISÁRIA DURANTE O PÓS-PARTO EM VACAS NELORE

Vinícius G. Pinheiro[1], José Renato L.M. Cury[2], Rafael A. Satrapa[2], Luzia A. Trinca[3], Ciro M. Barros[2a]

Departamento de Reprodução Animal[1] - FMVZ, Departamento de Farmacologia[2], Departamento de Bioestatisticas[3] - IB, Universidade Estadual Paulista (UNESP), 18618-970, Botucatu, São Paulo, Brasil.

Correspondencia autor: Ciro M. Barros; fax: +55 14 3815-3744;

e-mail: cmbarros@ibb.unesp.br

Abstract

The presence of calf, body condition score, energy balance, number of births (multiparous vs primiparous) and breed are factors that influence the duration of postpartum anestrus in beef cows. The purpose of the present study was to evaluate, during early postpartum, the time necessary for reestablishment of pituitary LH stocks, determined by the hypothalamic-pituitary axis responsiveness to exogenous administration of GnRH or estradiol benzoate (EB). Primiparous lactating Nelore (*Bos indicus*, n=21) and Brangus (3/5 Nellore x 5/8 Angus, n=19) cows (experiment 1), and multiparous lactating Nellore (n=90, exp. 2), were used. In both exp. the animals were randomly allocated into two groups: EB group (1.0 mg of EB, i.m.), GnRH group (50 μg lecireline, i.m.). In experiment 2, EB-SUP and GnRH-SUP groups received the same treatments above specified and were supplemented with a balanced diet, based on cotton meal and ground corn (3.5 kg/day). Additionally, Nellore seventeen cows (exp. 2) had their calf removed (CR) shortly after parturition. Moreover, in experiment 2 two other groups were introduced: LH group (LH 12.5 mg, i.m) and Control group (received saline instead of an ovulation-inducing agent). The hormones were administered weekly, from seven days postpartum (± 5 days) until the occurrence of the first ovulation, which was determined by the presence of CL during weekly ovarian ultrasonography. Blood samples were collected just before and 2 h (GnRH, LH and control groups) or 18 h (EB groups) after hormone or saline (control) administration, in order to determine LH and progesterone concentrations by RIA. Data were analyzed by ANOVA. The earliest ovulations detected in Nellore cows from GnRH groups in both experiments occurred 15 days after parturition. Furthermore, the average for the first ovulation in GnRH treated Brangus and Nellore cows (exp. 1) were significantly lower when compared with the EB-treated cows (51.4±0.9 vs. 96.6±0.8 and 45.6±13.9 vs. 81.7±7.2 days, respectively, $p < 0.01$). In experiment 2 on average (±SEM) the first ovulation post-partum BE (87.7±0.2); BE-RB (20.3±0.2); BE-SUPL (60.3±0.2); GnRH (40.4±0.1); GnRH-RB (21.0±0.1); GnRH – SUPL (26.4±0.1); LH (35.6±0.1); Controle (60.9±0.1). There were significant differences between groups EB vs. EB-SUPL; EB vs. EB-CR; EB vs. Control; BE vs. GnRH; GnRH vs. GnRH-SUPL; GnRH vs. GnRH-CR, and there was a tendency between LH vs. Control ($p=0.10$). Data from both experiments demonstrate the occurrence of induced LH surge at least one week before the LH surge that was responsible for the first postpartum ovulation. The results indicate that from the second week postpartum there is sufficient LH in the pituitary to induce ovulation after GnRH or EB administration. However, the cows from EB group ovulated later than the animals from the other groups, possibly due to sensitivity of the hypothalamus to negative feedback of estrogens, inhibiting the pre-ovulatory LH surge. Additionally, calf removal and food supplementation reduced in 2 to 4 weeks the time of the first postpartum ovulation induced by GnRH or EB.

Keywords: Anestrus; GnRH; postpartum; LH; *Bos indicus*; Nellore

Introdução

Acima de 50% do rebanho bovino mundial se encontra nos trópicos e são submetidos a temperaturas mais altas do que animais que habitam climas temperados. A raça Nelore (*Bos indicus*) é predominante no Brasil (90 milhões de cabeças; [1]) e está se tornando mais popular em outros países tropicais e subtropicais da América do Sul e do mundo [2], devido a sua maior resistência a altas temperaturas, umidade e parasitas, quando comparada às raças europeias (*Bos taurus*,[3-5]).

Um dos principais fatores limitantes para a produção pecuária é o longo período de anestro pós-parto observado em zebuínos mantidos em pastagens tropicais. Este período se estende desde o parto até o aparecimento do primeiro estro. Neste período também ocorre à involução uterina e o restabelecimento da atividade ovariana [6].

Segundo Nett *et al.* [7], o período pós-parto seria o período de transição durante o qual a funcionalidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal-uterino se recupera da gestação anterior. A nutrição e a amamentação são importantes fatores, mas outros fatores também contribuem para a duração do anestro pós-parto, entre eles podem-se destacar a estação do ano, idade da vaca (número de partos), raça, presença de touros [8], estresse, doenças, partos gemelares, distocia e retenção de placenta [9, 10].

Como a secreção de GnRH não é totalmente suprimida, a retomada precoce dos pulsos de FSH ocorre devido à baixa frequência inicial dos pulsos de GnRH, enquanto que, os pulsos de LH reiniciam relativamente mais tarde no pós-parto, quando a frequência dos pulsos de GnRH aumenta [11]. O padrão pulsatil de liberação do LH pós-parto se caracteriza por baixa frequência, menos de um pulso de LH a cada quatro horas [12]. Essa frequência aumenta durante o período imediatamente anterior à ovulação até aproximadamente um pulso de LH a cada uma ou duas horas [10, 13-15]. Vários fatores afetam a secreção de LH e a função ovariana em vacas no pós-parto, dentre os principais pode-se destacar o escore de condição corporal, a condição nutricional [16], balanço energético [17] e a freqüência de amamentação [11].

Em novilhas de corte Murphy *et al*.[18] demonstraram que a condição nutricional afetou o diâmetro do folículo dominante. Neste estudo novilhas submetidas à alta ingestão alimentar apresentaram folículos dominantes significativamente maiores que novilhas alimentadas com dietas para manutenção ou abaixo da manutenção. Além disso, as dietas nutricionais oferecidas aos bovinos em países tropicais são na maioria das vezes pastagens tropicais com baixos níveis protéicos e energéticos, não sendo suficientes para suprir a demanda metabólica das vacas logo após o parto. Desta forma, as vacas pós-parto entram em acentuado balanço energético negativo, o que leva a um retardo no restabelecimento do estro.

A formação do primeiro folículo dominante ocorre geralmente de dez a doze dias pós-parto em vacas de corte e de leite [5, 15, 19-21]. Em vacas de corte com bezerro ao pé a ciclicidade geralmente é restabelecida dentro de 35 a 60 dias pós-parto em animais que apresentam escores de condição corporal adequados, podendo este período se estender em condições desfavoráveis [10, 22]. Na grande maioria das vezes a primeira ovulação pós-parto ocorre sem a manifestação de estro [19, 20, 23], devido ao fato de que a capacidade do folículo dominante (FD), em produzir estradiol, está limitada durante o período de anestro pós-parto [24].

Stagg et al. [25] sugeriram que o comportamento maternal é mais importante que o ato da sucção em si para regular a frequência de pulsos de LH. A percepção inguinal do bezerro pela vaca durante a sucção, aumenta a sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo ao efeito de retroalimentação negativa do 17β-estradiol ovariano, pela liberação de peptídeos de ópioides endógenos pelo hipotálomo [26], ocasionando a supressão da liberação de pulsos de LH, falha no desenvolvimento final do FD e da ovulação, proporcionando a manutenção do anestro pós-parto. O efeito supressivo da amamentação parece influenciar a duração do período pós-parto do momento em que os estoques de LH hipofisário se recompõem (15 a 30 dias pós-parto) até aproximadamente 45 dias pós-parto.

Alguns autores [27, 28] observaram menores concentrações de LH em vacas da raça Brahman (*Bos indicus*), na ocorrência do pico pré-ovulatório, quando comparadas às da raça Hereford (*Bos taurus*, 20,2ng/ml e 113,2ng/ml, respectivamente). Além disso, D'occhio et al. [29] reportaram que vacas

Brahman possuem menores concentrações de LH na hipófise quando comparadas a vacas Hereford Shorthorn (*Bos taurus*), aos 39 e 50 dias pós-parto. Por outro lado, não observaram diferença nas concentrações de LH entre estas duas raças aos 18 e 29 dias pós-parto. Neste mesmo estudo os autores verificaram que vacas da raça Brahman apresentaram menor freqüência na pulsatilidade de LH quando comparadas a vacas Hereford Shorthorn aos 28, 39 e 50 dias pós-parto.

Devido à falta de informações na literatura com relação ao restabelecimento dos estoques de LH na hipófise em vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) no período pós-parto, objetivou-se com o presente trabalho verificar em que período do pós-parto ocorre o restabelecimento dos estoques de LH, avaliados pela responsividade do eixo hipotalámico-hipofisário a administração exógena de GnRH ou BE. Além disso, foi avaliada a influência da suplementação alimentar e da presença de bezerro na duração do anestro pós-parto em vacas Nelore.

Materiais e Métodos

Local dos experimentos

Os experimentos foram realizados na fazenda Yguaporã no município de Piraju na região centro-oeste do estado de São Paulo (latitude 23^0 11', longitude 49^0, 23' W). Nos períodos de Janeiro a Março nos anos de 2009 (experimento 1) e 2010 (experimento 2). Os animais foram pesados e tiveram seus escores de condição corporal (escala de 0 a 5, Lowman et al.) [30] avaliados 45 dias antes e no início dos experimentos e, após o início, semanalmente. As suplementações de concentrados fornecidas aos grupos indicados dentro do experimento 2 foram balanceadas de acordo com as necessidades nutricionais previstas no NRC®(31), a dieta era composta por 60% de milho moído e 40% de farelo de algodão (20,5% de PB e 78% de NDT) e foi fornecida do momento do parto até uma semana após a primeira ovulação.

Experimento 1

Foram utilizadas apenas vacas lactantes primíparas (n=40; 21 vacas da raça Nelore e 19 da Brangus), mantidas em pastagens de *Brachiaria brizantha*. As vacas da raça Nelore foram divididas em 2 grupos: grupo BE os animais receberam 1 mg de BE (via IM, Estrogin®, Farmavet, São Paulo, Brasil; n=9) e grupo GnRH os animais receberam 50 µg de lecirelina (via IM, Gestran Plus®, ARSA S.L.R., Buenos Aires, Argentina; n=12). Os animais da raça Brangus foram divididos em 2 grupos experimentais: Grupo BE (n=12) igual ao descrito acima para o grupo BE vacas Nelore, grupo GnRH (n=7) igual ao descrito acima para o grupo GnRH. Os fármacos foram administrados a partir do 10,4±8,2 dias pós-parto em intervalos de 7 dias até a ocorrência da 1ª ovulação pós-parto.

Os animais foram submetidos a duas coletas de sangue semanalmente: no momento da administração dos indutores da ovulação (GnRH ou BE) e 2 horas após a injeção de GnRH ou 18 horas após a de BE, para determinação das concentrações dos hormônios LH e progesterona, por meio de radioimunoensaio. Os animais foram submetidos a exames ultrassonográficos semanais dos ovários, no início do experimento e no momento da administração dos fármacos, para a observação do diâmetro folicular e presença de corpo lúteo (indicativo de ovulação).

Experimento 2

Foram utilizadas 90 vacas Nelore lactantes multíparas mantidas em pastagens de *Brachiaria brizantha*, divididas aleatoriamente em oito grupos, de acordo com o tratamento: grupo BE os animais receberam 1mg de BE (via IM, Estrogin®, Farmavet, São Paulo, Brasil; n=7), grupo BE-RB semelhante ao grupo BE, porém houve remoção definitiva dos bezerros em até 72 horas pós-parto (n=4), grupo BE-SUPL semelhante ao grupo BE, porém houve suplementação com 3,5 Kg/vaca/dia de suplemento alimentar balanceada a base farelo de algodão e milho moído (n=9), grupo GnRH os animais receberam 50µg de lecirelina (via IM, Gestran Plus®, ARSA S.L.R., Buenos

Aires, Argentina; n=16), grupo GnRH-RB, semelhante grupo GnRH, porém houve remoção definitiva dos bezerros (n=13), grupo GnRH-SUPL semelhante ao grupo GnRH, porém houve suplementação dos animais com suplemento balanceado a base de farelo de algodão e milho moído (3,5 Kg/vaca/dia); (n=14), grupo LH os animais receberam 12,5 mg de LH (IM, Lutropin® BIONICHE, Ontario, Canada; n=14) e grupo Controle (não foi utilizado agente indutor de ovulação, n=12). Os fármacos foram administrados a partir do sétimo dia pós-parto (± 5 dias) em intervalos de 7 dias até a ocorrência da primeira ovulação, detectada por um exame ultrassonográfico semanal (US, Aloka 900, Tokyo, Japão, transdutor retal de 7,5 MHz).

Os animais foram submetidos a duas coletas de sangue semanalmente: no momento da administração dos indutores da ovulação (GnRH, LH, salina e BE) e 2 horas após a injeção de GnRH, LH e salina (controle) ou 18 horas após a de BE, para determinação das concentrações de LH e progesterona, por meio de radioimunoensaio.

Radioimunoensaio

As colheitas de sangue foram realizadas por venopunção da veia jugular (tubos Vacutainer® com heparina). Após a colheita, as amostras (10 ml) foram colocadas imediatamente no gelo. O plasma foi separado por centrifugação em até 4 horas (900 x g por 20 min) e posteriormente armazenado a -20 ºC até o momento da análise por meio de técnicas de radioimunoensaio para a progesterona e o hormônio luteinizante.

As concentrações plasmáticas de progesterona foram determinadas de acordo com a técnica de radioimunoensaio descrita por Knickerbocker et al.[32] e modificada por Carriere e Lee [33]. Os coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram 4,82 e 10,61%, respectivamente.

As determinações das concentrações de LH foram realizada de acordo com a técnica descrita por Bolt & Rollings [34]. Os coeficientes de variação médios intra e inter-ensaio foram 7,88 e 7,79%, respectivamente.

Análise estatística

Experimento 1

Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para estudar os efeitos da presença de bezerro, suplementação alimentar, escore de condição corporal e raça na duração do anestro pós-parto e as interações desses fatores no restabelecimento da responsividade do eixo hipotalâmico-hipofisário ao GnRH e/ou BE. Foi considerado entre os grupos experimentais, como fator de variação, o escore de condição corporal. Os dados foram calculados através do Proc GENMOD do programa SAS [35].

As freqüências de picos de LH entre os tratamentos foram comparados por análise de regressão (Proc PHREG e REG, SAS) e para comparar as médias em dias para o primeiro pico de LH foi utilizado o teste exato de Fisher.

Experimento 2

Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para estudar os efeitos da presença do bezerro, suplementação alimentar e escore de condição corporal na duração do anestro pós-parto e as interações desses fatores no restabelecimento da responsividade (taxa de ovulação) do eixo hipotalâmico-hipofisário ao GnRH e BE; LH (controle da taxa de ovulação, por ação direta no folículo ovariano). Foi considerado entre os grupos experimentais, como fator de variação, o escore de condição corporal. Os dados foram calculados através do Proc GENMOD do programa SAS [35]. Os resultados sobre o picos de LH foram comparados também por análise de variância utilizando o teste de Tuckey (comparar as médias em dias para o primeiro pico de LH e as concentrações de LH) e análise de regressão logística para comparar a percentagem de animais que tiveram pico de LH entre os tratamentos.

RESULTADOS

Experimento 1

Os resultados obtidos no experimento 1 encontram-se sumariados na tabela 1. As primeiras ovulações detectadas nos animais dos grupos GnRH e BE ocorreram no 15º e 33º dias pós-parto, respectivamente. Além disso, a média para a primeira ovulação das vacas do grupo GnRH foi significativamente menor quando comparada com as do grupo BE tanto para raça Nelore como Brangus (tabela 1). Oito vacas do grupo BE não ovularam até 120 dias pós-parto e esta data foi considerada como sendo a da ovulação para a análise de dados. Apenas dois animais ovularam antes do 40º dia. A primeira ovulação pós-parto em vacas Nelore primíparas tratadas com GnRH aconteceu em média 51,4±0,9 dias, sendo que, sete animais ovularam antes do 40º dia, doze animais entre quarenta e sessenta dias e quatro vacas após os 60 dias.

A raça (Nelore vs. Brangus) não influenciou a ocorrência da primeira ovulação pós-parto nas vacas tratadas com GnRH ou BE (tabela 1).

Tabela 1 – Número de dias (media±EPM) para a ocorrência da primeira ovulação pós-parto em vacas primíparas Nelore e Brangus tratadas com benzoato de estradiol (BE) e GnRH a cada 7 dias após o parto.

	Nelore		**Brangus**	
Grupos	**BE**	**GnRH**	**BE**	**GnRH**
Primeira ovulação (dias)	96,6±0,8[a] (n=9)	51,4±0,9[b] (n=12)	81,7±7,2[a] (n=12)	45,6±13,9[b] (n=7)

[a, b, c, d] letras minúsculas diferentes indicam resultados diferentes ($p<0,05$)

Concentrações de LH antes e após a administração de GnRH ou BE, em vacas Nelore primíparas

Os animais do grupo BE apresentaram menores taxas de ocorrência do pico de LH [2/11(18,1%)], quando comparados com os grupos GnRH [7/9 (77,8%)] p=0.0074. Além disso, houve diferença significativa entre os grupos quando se avaliou o período entre o parto e a ocorrência do primeiro pico de LH: BE (59±1,3 dias) vs GnRH (41,6±1,3 dias).

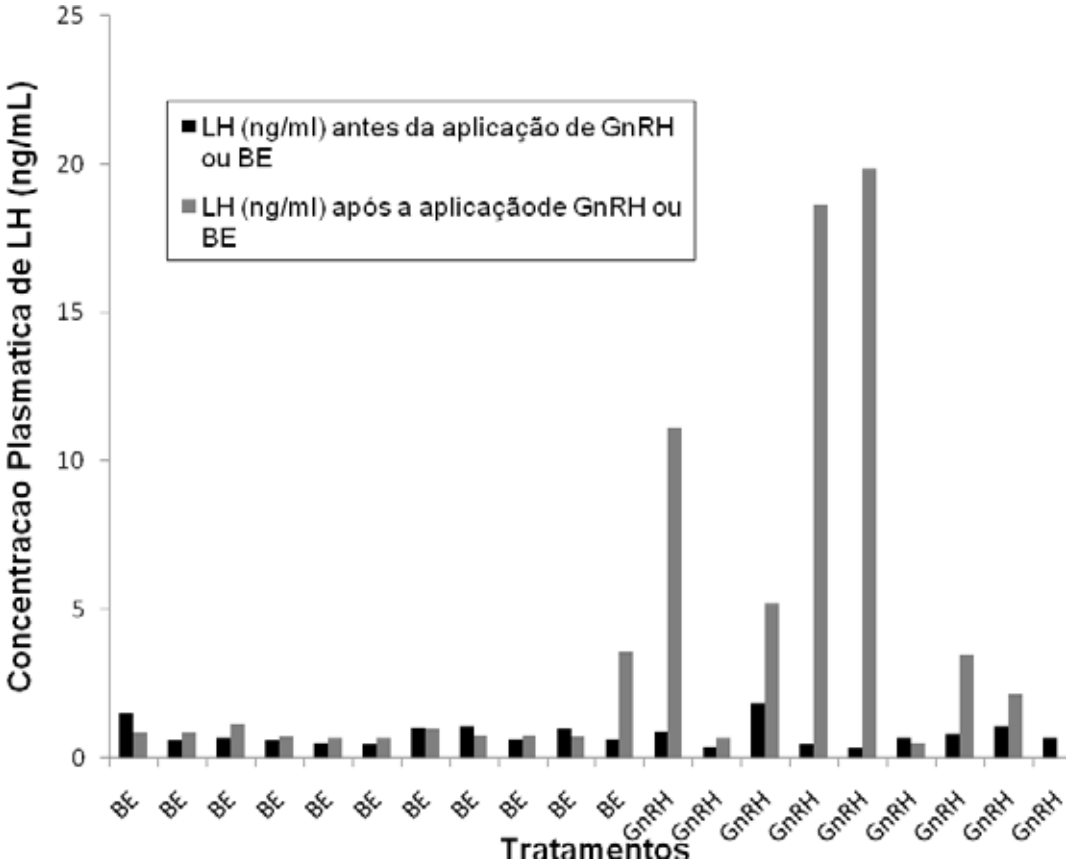

Figura 1 - Influência da administração de GnRH ou bezoato de estradiol (BE) na ocorrência do pico de LH (ng/ml), em vacas Nelore primíparas, na semana anterior à primeira ovulação pós-parto.

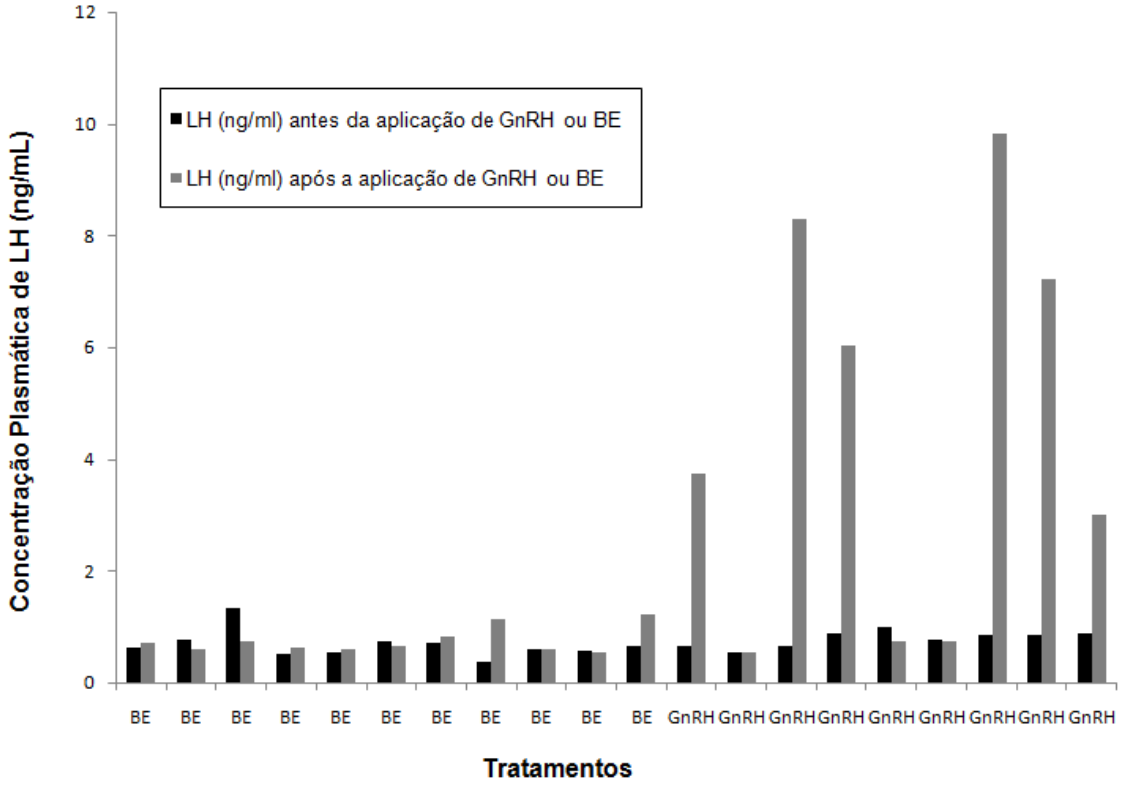

Figura 2 - Influência da administração de GnRH ou bezoato de estradiol (BE) na ocorrência do pico de LH (ng/ml), em vacas Nelore primíparas, na mesma semana em que detectou-se a primeira ovulação pós-parto por meio de ultrassonografia.

Experimento 2

Os resultados obtidos no experimento 2 se encontram sumariados na tabela 2. As primeiras ovulações detectadas nos grupos GnRH-SUPL e GnRH-RB ocorreram ambas no 9º dia pós-parto, indicando a presença de estoques de LH suficientes para promover a primeira ovulação. O uso do benzoato de estradiol (grupo BE) atrasou a primeira ovulação pós-parto quando comparado a todos os outros tratamentos. Neste experimento, 82% dos animais tratados com GnRH ovularam antes do 40º dia e apenas duas vacas (4,5%) ovularam 60 dias pós-parto. Entretanto, nenhum animal tratado com BE ovulou antes do 60º dia e 57% das vacas multíparas ovularam após o 80º dia.

Os animais suplementados com ração balanceada ganharam em média 7,8±0,9 quilos durante o experimento, enquanto que os não suplementados perderam 6,3±1,2 quilos no mesmo período.

A remoção de bezerro (RB) e a suplementação nutricional (SUPL) anteciparam a primeira ovulação nos animais tratados com BE (tabela 2). De

forma similar, a RB e a SUPL anteciparam a primeira ovulação nas vacas tratadas com GnRH (Tabela 2).

A administração de LH tendeu ($p < 0,10$) a antecipar a primeira ovulação em vacas Nelore multíparas pós-parto quando comparadas às do grupo controle (Tabela 2).

Tabela 2 – Número de dias (media±EPM) para a ocorrência da primeira ovulação pós-parto em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE, 1mg), GnRH (50µg) ou LH (12,5 mg) a cada sete dias após o parto, com ou sem suplementação alimentar (SUPL) e na presença ou ausência de bezerro (RB).

Grupos Experimentais

	BE	BE- RB	BE-SUPL	GnRH	GnRH-RB	GnRH-SUPL	LH	CONTROLE
Primeira ovulação (dias)	87,7±0,2^{a} (n=7)	20,3±0,2^{b} (n=4)	60,3±0,2^{c,d} (n=9)	40,4±0,1^{c} (n=16)	21,0±0,1^{b} (n=13)	26,4±0,1^{b} (n=16)	35,6±0,1$^{b,c,+}$ (n=14)	60,9±0,1$^{d,+}$ (n=11)

$^{a, b, c, d}$ letras minúsculas diferentes indicam resultados diferentes ($p<0,05$)
$^{+}$ comparação entre o grupo LH vs. Controle ($p<0,10$)

Concentrações de LH antes e após a administração de GnRH, BE ou LH em vacas Nelore multíparas

Os resultados obtidos no experimento 2 se encontram sumariados na tabela 3. Os primeiros picos de LH detectados nos grupos GnRH-SUPL e GnRH ocorreram no 2º e 8º dias pós-parto, respectivamente, indicando a presença de estoques de LH suficientes para promover a primeira ovulação. O uso do benzoato de estradiol (grupo BE) atrasou o primeiro pico de LH pós-parto quando comparado a todos os outros tratamentos. Neste experimento, 86% dos animais tratados com GnRH apresentaram pico de LH antes do 40º

dia e apenas 4,5% das vacas depois do 50º dia . Entretanto, 57% das vacas do grupo BE apresentaram pico de LH depois 80º dia pós-parto.

Da mesma forma que para primeira ovulação (Tabela 2), a remoção definitiva de bezerro (RB) e a suplementação alimentar (SUPL) anteciparam o primeiro pico de LH nos animais tratados com GnRH e BE (tabela 3 e figura 3).

Na figura 4 estão sumariadas as concentrações médias de LH antes e após a administração de BE, GnRH e LH. A concentração de LH duas horas após a administração de GnRH diferiram significativamente das observadas duas horas após a aplicação de LH e 18 horas após a administração de BE.

Tabela 3 – Número de dias (media±EPM) para a ocorrência do primeiro pico de LH pós-parto em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE, 1mg), GnRH (50µg) ou LH (12,5mg) a cada 7dias após o parto, com ou sem suplementação alimentar (SUPL) e na presença ou ausência da remoção de bezerro (RB).

	Grupos Experimentais					
	BE	**BE- RB**	**BE-SUPL**	**GnRH**	**GnRH-RB**	**GnRH-SUPL**
Primeiro pico de LH (dias)	73,0±5,2^{a} (n=7)	16,7±5,8$^{b,c+}$ (n=4)	41,7±6,7$^{c,d,+}$ (n=9)	32,3±3,0^{d} (n=17)	11,0±3,5^{b} (n=11)	15,6±2,8^{b} (n=17)

$^{a, b, c, d}$ letras minúsculas diferentes indicam resultados diferentes (p<0,001)
$^{+}$ comparação entre o grupo BE-RB vs. BE-SUPL (p<0,10)

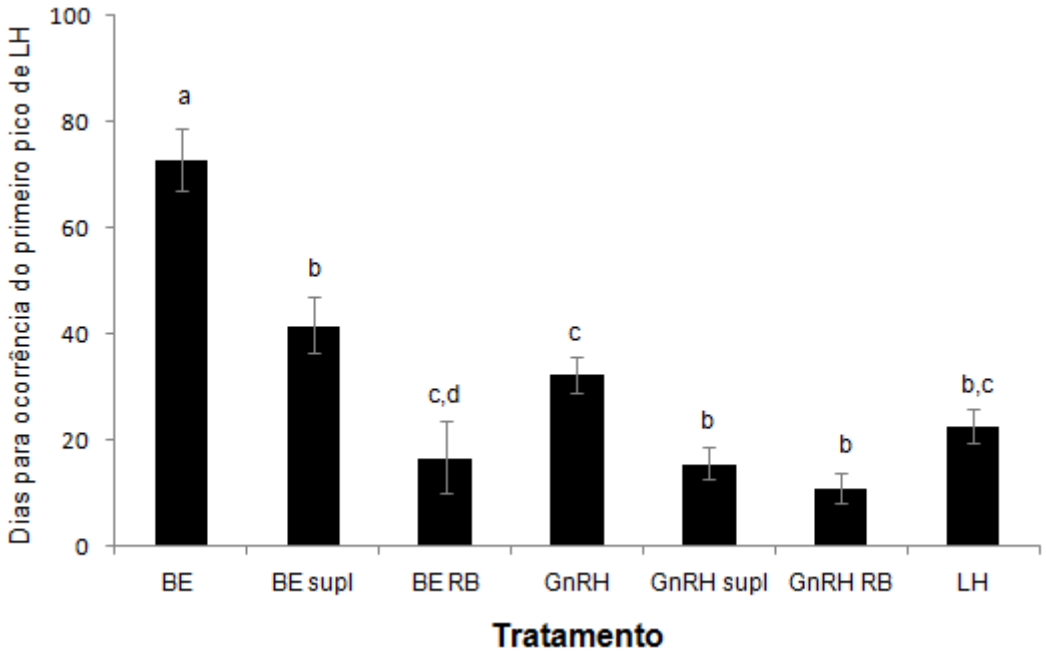

Figura 3 - Influência da suplementação alimentar (supl) e da remoção de bezerro (RB) na ocorrência (dias) do primeiro pico de LH pós-parto em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE), GnRH ou LH. Letras diferentes indicam diferença significativa (p<0,05).

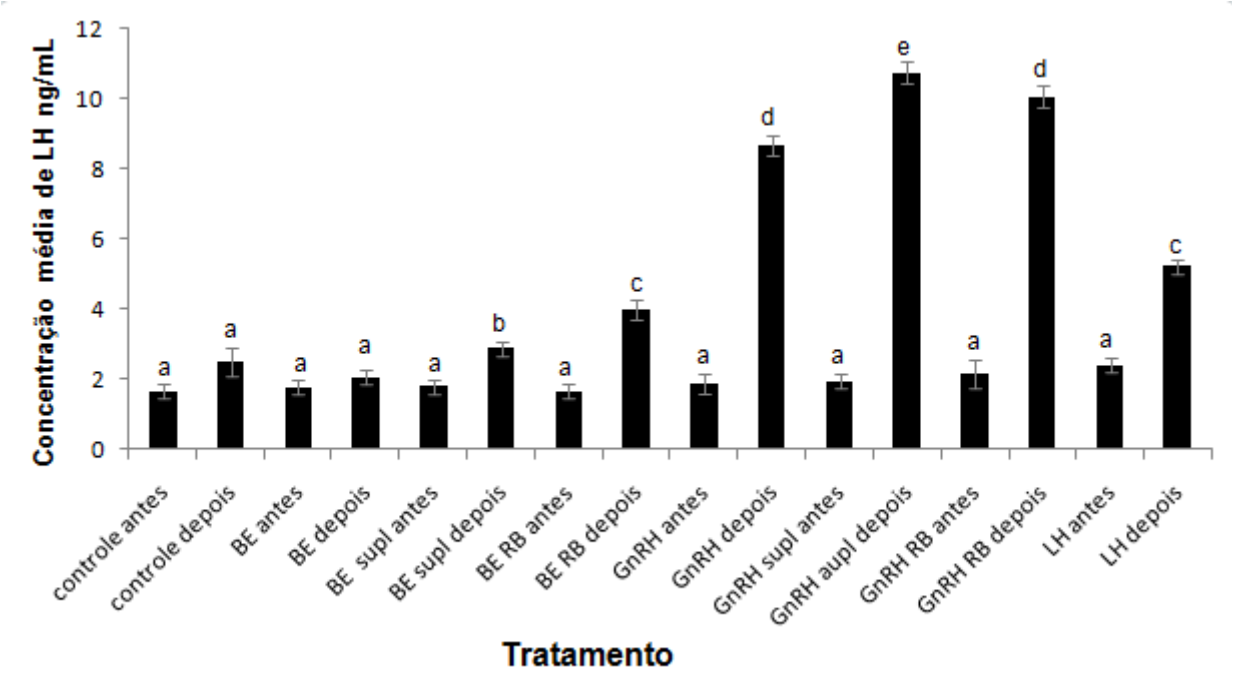

Figura 4 – Influência da remoção de bezerro e da suplementação alimentar na concentração média de LH (ng/ml) em vacas Nelore multíparas tratadas com benzoato de estradiol (BE), GnRH ou LH. No grupo controle não houve remoção de bezerro nem tratamento para indução da ovulação. Letras diferentes indicam diferença significativa (p<0,05).

Concentrações de Progesterona em vacas Nelore primíparas (experimento 1) e multíparas (experimento 2).

As concentrações de progesterona nas vacas Nelore primíparas e multíparas na semana posterior a primeira ovulação (5 a 6 dias após o momento da ovulação) detectada por ultrassonografia nos grupos tratados com benzoato de estradiol, GnRH, LH e controle foram 1,19±0,3; 1,47±0,3; 1,39±0,4 e 0,84±0,4 ng/ml respectivamente. Observou-se que 49% (57/117) das vacas apresentaram concentrações de progesterona acima de 1 ng/ml ou pelos menos 50% superior a concentração de progesterona determinadas no momento anterior a ovulação.

DISCUSSÃO

No presente estudo o pico de LH e a primeira ovulação induzida por GnRH ou BE ocorreram entre a segunda e terceira semanas pós-parto nas vacas com remoção de bezerro. O pico de LH ocorreu, na maioria dos animais, no mínimo uma semana antes da primeira ovulação, entre a primeira e segunda semana após o parto. O BE atrasou a primeira ovulação pós-parto quando comparadas com os animais dos outros grupos experimentais e controle. Por outro lado, a suplementação alimentar e a remoção de bezerro anteciparam a primeira ovulação pós – parto induzida por GnRH ou BE.

Em vacas de corte lactantes a ciclicidade geralmente é restabelecida dentro de 35 a 60 dias pós-parto em animais que apresentam escore de condição corporal adequado, podendo este período se estender em condições desfavoráveis [10, 22]. No atual estudo as vacas multíparas lactantes *(Bos indicus*) do grupo controle ovularam em média 60,9±0,1 dias pós-parto. Estes dados são semelhantes aos relatados em vacas de corte multíparas *Bos taurus* [36] e diferem daqueles encontrados por outros autores em Bos taurus (35, 81 e 28,6 dias pós-parto, Murphy *et al*., [19]; Butler, [37], Crowe, [10], respectivamente e *Bos indicus* (45,4 dias pós-parto, De Fries *et al*., [38]). Tal diferença provavelmente esta relacionada à condição nutricional, pois as vacas

do grupo controle (experimento 2) foram mantidas em pastos de *Brachiaria* sp. O teor de proteína bruta desta forragem muitas vezes é inferior a 7,5%, o que leva a uma depleção de microorganismos ruminais e conseqüentemente as vacas em lactação são incapazes de satisfazer suas necessidades nutricionais, entram em balanço energético negativo e, conseqüentemente há um prolongamento do período de anestro pós-parto [38, 39].

No experimento 2 a suplementação nutricional com alta energia antecipou a primeira ovulação pós-parto, induzida por GnRH ou BE. Estes resultados estão de acordo com vários trabalhos, onde vacas alimentadas com dieta com alta energia conceberam mais cedo do que aquelas que ingeriram dieta com baixa energia [40-45]. Além disso, a mudança na condição corporal nas duas primeiras semanas após o parto está inversamente relacionada ao número de dias para a ocorrência da primeira ovulação pós-parto [46, 47].

No presente estudo a ausência de bezerro diminuiu significativamente o intervalo entre o parto e a primeira ovulação em vacas Nelore multíparas. Estes resultados corroboram os de Butler e Macmillan [37] que observou a antecipação da primeira ovulação pós-parto em vacas multíparas que foram submetidas à remoção de bezerro quando comparadas a aquelas que continuaram amamentando (35 e 81 dias respectivamente). Além disso, Mukasa-Mugerwa et al. [48] relataram que a primeira ovulação pós-parto ocorreu em média no 43º dia em vacas multíparas cujos bezerros foram desmamados 30 dias pós-parto. Estes resultados indicam que a remoção temporária ou total do bezerro é um fator importante na indução da primeira ovulação pós-parto e na redução do anestro pós-parto. Segundo Williams et al., [12] houve aumento nos pulsos de LH em vacas que tiveram os bezerros removidos por 48 horas quando comparadas a aquelas que ficaram juntas com seus bezerros (3,0±0,6 vs. 1,2±0,3 pulsos em 6 horas, respectivamente), o que justificaria esta antecipação no retorno a ciclicidade nos grupos experimentais que tiveram remoção de bezerro.

Semelhante ao observado com a primeira ovulação, houve um diminuição (em dias) para a ocorrência do primeiro pico de LH nos grupos que foram submetidos à remoção de bezerro (GnRH-RB) e a suplementação alimentar (GnRH-SUPL), 11,0±3,5 e 15,6±2,8 dias, respectivamente. Estes resultados são indicativos da presença de estoques de LH na pituitária em vacas Nelore a

partir da segunda semana pós-parto e estão de acordo com os obtidos por Crowe at al. [10] que ao induzirem a ovulação do primeiro folículo dominante com buserelina (análogo do GnRH) e verificaram que todos os animais ovularam (16,1±0,8 dias, n=12 pós-parto). Entretanto, Duffy et al. [14] demonstraram que a pulsatilidade do LH reduzida é o fator limitante para a ocorrência da primeira ovulação pós-parto, ao induzirem a pulsatilidade de LH com a administração exógena observavam aumento no tamanho do folículo dominante e da onda folicular em dias, porém não foram capaz de induzir a primeira ovulação pós-parto.

Houve antecipação de uma a três semanas na ocorrência do pico de LH induzido com relação à primeira ovulação pós-parto. Estes resultados sugerem que a disponibilidade do LH hipofisário não foi o fator limitante para indução da ovulação. É possível que algumas vacas não ovularam devido ao pequeno diâmetro folicular e a ausência de receptores de LH no momento da administração do agente indutor da ovulação. De fato, os dados do grupo GnRH-RB indicam que a presença de estoques de LH na hipófise suficientes para induzir ovulação entre a primeira e segunda semana pós-parto. Estes resultados corroboram os de Nett et al. [7], que indicam a necessidade de um período de duas semanas para o restabelecimento dos estoques de LH na hipófise anterior de vacas no pós-parto.

No presente estudo a administração de BE atrasou a primeira ovulação pós-parto tanto em vacas primíparas como multíparas quando comparadas aos animais que foram tratados com GnRH (experimentos 1 e 2), LH e controle (experimento 2). Este atraso na primeira ovulação em relação ao grupo tratado com GnRH possivelmente ocorreu devido a um aumento na sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH a retroalimentação negativa de estrógenos, em decorrência da hipersensibilidade do hipotálamo, aos elevados níveis de estrógenos endógemos no período peri-parto, impedindo desta forma o pico pré-ovulatório de LH [49].

No atual estudo a remoção de bezerro foi capaz de minimizar o efeito negativo da administração do BE na indução da primeira ovulação pós-parto. Isto provavelmente ocorreu devido ao fato da percepção inguinal do bezerro, pela vaca durante a sucção, aumentar a sensibilidade do hipotálamo a retroalimentação negativa do 17β-estradiol, devido à liberação de peptídeos

opióides endógenos [26], ocasionando a supressão da liberação de pulsos de LH, falha no desenvolvimento final do folículo dominante e da ovulação.

Além disso, segundo Yavas e Walton [9] o efeito supressivo da amamentação parece influenciar a duração do período pós-parto, do momento que os estoques de LH hipofisário se recompõem até aproximadamente 45 dias pós-parto. De acordo com estes autores o desmame ou as interrupções temporárias da amamentação em vacas *Bos taurus* possuem pouca influência sobre o intervalo parto-primeira ovulação quando praticadas depois deste período, ou seja, acima de 45 dias pós-parto.

No experimento 2, a administração de LH antecipou a primeira ovulação pós-parto quando comparada ao grupo controle (35,6±0,1 vs 60,9±0,1 dias, $p<0,10$). Entretanto, foi semelhante ao grupo de animais tratados com GnRH, indicando que possivelmente as vacas que receberam GnRH não ovularam devido à falta de estoques de LH na hipófise, mas devido provavelmente ao diâmetro folicular no momento da administração do agente indutor da ovulação e ausência de receptores de LH. Estes resultados corroboram os de Crowe et al. [15] que obtiveram uma taxa de ovulação de 100% (n=12) após induzirem o primeira ovulação pós-parto com GnRH.

É interessante notar que a administração de GnRH induziu a primeira ovulação cerca de 30 a 40 dias pós-parto tanto nas vacas da raça Nelore (primíparas e multíparas) como na raça Brangus (primíparas), indicando que nas mesmas condições de manejo e alimentação a raça Brangus (5/8 Angus x 3/8 Nelore) não difere da Nelore quanto à ocorrência da primeira ovulação pós-parto induzida por GnRH.

O primeiro pico de LH induzido por BE ou GnRH ocorreu já na primeira semana pós-parto em alguns animais, porém na maioria deles ocorreu a partir da segunda semana. Entretanto, as vacas do grupo BE tiveram um atraso para a ocorrência do primeiro pico de LH com relação a todos os outros grupos.

No presente estudo 49% das vacas não apresentam aumento significativo nas concentrações de progesterona entre a semana da ovulação e a semana seguinte (5 a 6 dias após a ovulação). Estes resultados podem estar relacionados principalmente imaturidade do CL em produzir progesterona neste período ou ainda a ocorrência de ciclo curto, pois segundo Stagg et al [21] e Looper et al [23] a primeira ovulação pós-parto é seguida por um ciclo estral

curto e não é precedida pela manifestação de estro em 80 a 90% das vacas de corte. Além disso, o ciclo curto é composto por uma única onda de crescimento folicular, CL de diâmetro menor e baixas concentrações circulantes de progesterona quando comparado ao ciclo estral normal [10, 22].

Conclui-se que entre a primeira e segunda semana pós-parto vacas da raça Nelore (*Bos indicus*) possuem estoques de LH na hipófise suficientes para a ocorrência do pico de LH induzido por GnRH. Além disso, a suplementação alimentar e a remoção definitiva de bezerro anteciparam o pico de LH e a primeira ovulação pós-parto em vacas Nelore.

REFERÊNCIAS

[1] Associação dos criadores de nelore do Brasil – ACNB, httpp://www.nelore.org.br

[2] Bo GA, Baruselli PS, Martinez MF. Pattern and manipulation of follicular development in Bos Indicus cattle. Anim Reprod Sci 2003;78;307:326.

[3] Hansen PJ, Orost M, Rivera RM, Paula-lopes FF, Al-katanani YM, Krininger III CE, Chase JR. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. Theriogenology 2000;55;91:103.

[4] Barros CM, Pegorer MF, Vasconcelos JLM, Eberhardt BG, Monteiro FM. Importance of sperm genotype (indicus versus taurus) forfertility and embryonic development at elevated temperatures. Theriogenology 2006;65;1:210:8.

[5] Sartori R, Barros CM. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. Anim Reprod Sci 2011. PMID 21388755 In press.

[6] Hafez ESE. Reproduction in farm animal. 7. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 585, 2004.

[7] Nett TM, Cermak D, Braden T, Manns J, Niswender G. Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows.II changes during the postpartum period. Domest Anim Endocrinol 1988;5(1);81:89.

[8] Short RE, Bellows RA, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Custer EE, Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. J. Anim. Sci., Champaign 1990;68;799:806.

[9] Yavas Y, Walton JS. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. Theriogenology 2000;54;1:23.

[10] Crowe MA, Review Article, Resumption of Ovarian Cyclicity in Post-partum Beef and Dairy Cows. Reprod Dom Anim 2008;43(Suppl. 5);20:28.

[11] Lamming GE, Wathes DC, Peters AR. Endocrine patterns in the post-partum cow. J Reprod Fert 1981;30;155:170.

[12] Williams GL, Talavera F, Petersen BJ, Kirsch JD, Tilton JE. Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone. Biol Reprod 1983;29;362:373.

[13] Schallenberger E, Prokopp S. Gonadotrophins and ovarian steroids in cattle. IV. Re-establishment of the stimulatory feedback action of oestradiol-17-beta on LH and FSH. Acta Endocrinol 1985;109;44:49.

[14] Duffy P, Crowe MA, Boland MP, Roche JF. Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. J Reprod Fertil 2000;22;9:17.

[15] Crowe MA, Goulding D, Baguisi A, Boland MP, Roche JF. Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. J Reprod Fertil 1993;99(2);551:5.

[16] Wright IA, Rhind SM, Smith AJ, Whyte TK. Effects of body condition and estradiol on luteinizing hormone secretion in post-partum beef cows. Domest Anim Endocrinol 1992;9;305:12.

[17] Canfield RW, Butler WR. Energy balance and pulsatile LH secretion in early postpartum dairy cattle. Domest Anim Endocrinol 1990;7;323:30.

[18] Murphy MG, Martinuk SD. Equine chorionic gonadotrophin. Endocrine Reviews 1991;12;27:44.

[19] Murphy MG, Boland MP, Roche JF. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. J Reprod Fert 1990;90;523:33.

[20] Savio JD, Boland MP, Hynes N, Roche JF. Resumption of follicular activity in the early postpartum period of dairy cows. J Reprod Fertil Cambridge 1990;88;569:579.

[21] Stagg K, Diskin MG, Sreenan JM, Roche JF. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. Anim Reprod Sci 1995;38;49:61.

[22] Yavas Y, Walton JS. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. Theriogenology 2000;54;25:55.

[23] Looper ML, Lents CA, Vizcarra JA, Wettemann RP. Evalution of the effects of body condition on luteal activity and estrus in postpartum beef cows. J Anim Sci Champaign 1997;74;223 (abstract).

[24] Spicer LJ, Leung K, Convery EM, Ginther J, Short RE, Tucker HA. Anovulation in postpartum suckled beef cows. I. Associations among size and numbers of ovarian follicles, uterine involution, and hormones in serum and follicular fluid. J Anim Sci 1986;62;734:741.

[25] Stagg K, Spicer LJ, Sreenan JM, Roche JF, Diskin MG. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in bee cows fed either of two energy levels postpartum. Biol Reprod 1998;59;777:783.

[26] Stevenson JS, Knoppel EL, Minton JE, Salfen BE, Garverick HA. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. J Anim Sci 1994;72;690:699.

[27] Randel RDS. Effects on female reproductive functions in the bovine (indian breeds). Theriogenology 1984;21;174:185.

[28] Rhodes III RC, Randel RD, Harms P.G. Reproductive studies of Brahman cattle IV. Brahman, Brahman x Hereford and Hereford cows following a 20 mg dose of estradiol-17Bβ. Theriogenology 1979;10;85-95.

[29] D'occhio MJ, Neish A, Broadhurst I. Differences in gonadotrophin secretion post partum between zebu and European breed cattle. Anim Reprod Sci 1990;22;311:7.

[30] Lowman BG, Scott NA, Somerville SH. Condition score of cattle: the east of scotland. Edinburgh: College of Agriculture 1976;1:31 (Bulletin 6)

685 [31] National research council - nrc. Nutrients requeriments of beef cattle.
686 7.ed. Washington, D.C.: 1996;244.
687 [32] Knickerbocker JJ, Thatcher WW, Bazer FW, Drost M, Barron DH,
688 FincherKB, Roberts RM. Proteins secreted by day-16 to -18 bovine
689 conceptuses extend corpus luteum function in cows. Journal
690 Reproduction and Fertility 1986;77:381-391.
691 [33] Carrière PD, Lee B. Direct radioimmunoassay of progesterone in bovine
692 plasma using danazol (17-alpha-2,4-pregnadien-20-yno(2,3-d)isoxazol-
693 17-ol) as a displacing agent. Can J Vet Res 1994;58(3):230-3.
694 [34] Bolt DJ, Rollins R. Development and application of a radioimmunoassay
695 for bovine folicle-stimulating hormone. J. Anim. Sci 1983;56;146:54.
696 [35] Sas. Statistical Analylis System. SAS/STAT Users Guide, Release 9.1
697 Edition 2002. Cary, NC, USA, SAS Inst., Inc.
698 [36] Wiltbank JN. Effect of level of nutrition on growth and reproduction of
699 beef females. Georgia Nutrition Conference, 16-18 February 1977;138-
700 146.
701 [37] Butler DA, Macmillan JP. Relationship of breast feeding and weight loss
702 to jaundice in the newborn period: review of the literature and results of a
703 study. Cleve Clin Q 1983;50;263:268.
704 [38] De Fries CA, Neuendorff DA, Randel RD. Fat supplementation influences
705 postpartum reproductive performace in Brahman cows. J Anim Sci
706 1998;76;867:870.
707 [39] Ward HK. Supplementation of beef cues grazing on veldt. Rhodesian
708 Journal of Agricultural Research 1968;6;93:101.
709 [40] Pinheiro VG, Souza AF, Pegorer MF, Satrapa RA, Ereno RL, Trinca LA,
710 Barros CM. Effects of temporary calf removal and eCG on pregnancy
711 rates to timed-insemination in progesterone-treated postpartum Nellore
712 cows. Theriogenology 2009;71;519:524.
713 [41] Wiltbank JN, Rowden WW, Ingalls JE, Gregory KE, Koch RM. Effect of
714 energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. J
715 Anim Sci 1962;21;219:225.
716 [42] Wiltbank JN, Rowden WW, Ingalls JE, Zimmerman DR. Influence of
717 postpartum energy levels on reproductive performance of Hereford cows

718 restricted in energy intake prior to calving. J Anim Sci
719 1964;23;1049:1053.
720 [43] Dunn TG, Ingalls JE, Zimmerman DR, Wiltbank JN. Reproductive
721 performance of 2-years old Hereford and Angus heifers as influencied by
722 pre- and post-calving energy intake. J Anim Sci 1969;29;719:726.
723 [44] Hill JR, Lamond DR, Henricks DM, Dickey JF, Niswender GD. The
724 effects of undernutrition on ovarian function and fertility in beef heifers.
725 Biol Reprod 1970;2;78;84.
726 [45] Sartori R, Fricke PM, Ferreira JC, Ginther OJ, Wiltbank MC. Follicular
727 deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. Biol
728 Reprod 2001;65;1403:1409.
729 [46] Meneghetti M, Vilela ER, Vasconcelos JLM. Efeito da remoção dos
730 bezerros nos folículos dominante e na taxa de ovulação ao primeiro
731 GnRH em protocolos de sincronização em vacas Nelore em anestro.
732 Rev Bras Reprod Anim 2001;25;286:288.
733 [47] Butler WR, Everett RW, Coppock CE. The relationships between energy
734 balance, milk production and ovulation in postpartum Holstein cows. J
735 Anim Sci 1981;53;742:748.
736 [48] Mukasa-mugerwa E. A review of reproductive performance of female *Bos*
737 *indicus* (Zebu) cattle. ILCA monog 1989;6;1:34.
738 [49] Wiltbank MC, Gumen A, Sartori R. Physiological classification of
739 anovulatory conditions in cattle. Theriogenology 2002;57;21:52.
740
741
742
743
744