UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO PRÉ E PÓS-OVULATÓRIA DE PROGESTERONA EM PROTOCOLOS DE IATF EM FÊMEAS NELORE

ROGÉRIO FONSECA GUIMARÃES PERES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Setembro– 2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO PRÉ E PÓS-OVULATÓRIA DE PROGESTERONA EM PROTOCOLOS DE IATF EM FÊMEAS NELORE

ROGÉRIO FONSECA GUIMARÃES PERES

Médico Veterinário

Orientador: Prof. Ass. Dr José Luiz Moraes Vasconcelos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Setembro– 2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Peres, Rogério Fonseca Guimarães, 1983-
P437e Efeito da concentração pré e pós-ovulatória de progesterona em protocolos de IATF em fêmeas nelore / Rogério Fonseca Guimarães Peres. - Botucatu : [s.n.], 2008.
vi, 87 f. : gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008
Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos
Inclui bibliografia

1. Progesterona. 2. Nelore (Zebu). 3. Inseminação artificial. I. Vasconcelos, José Luiz Moraes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais ***JOSÉ DA FONSECA PERES*** *e* ***TEREZINHA MARIA GUIMARÃES PERES****, pelos exemplos de honestidade e perseverança, pelo amor incondicional e por sempre me apoiarem na realização de meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre comigo, me ajudando em todas etapas de minha vida.

Ao meu amigo e orientador Prof. Zequinha, pela amizade, pelos conselhos, pelo amadurecimento, pela rigidez e por sempre ter sido um exemplo de que podemos ir além.

Aos meus pais, por terem me ensinado o valor da palavra EDUCAÇÃO e por sempre terem me dado excelentes oportunidades de estudo. E também, pela confiança depositada em todas as decisões que tomei.

Ao meu irmão Murilo, pela amizade e por dividir tantos bons momentos.

Aos meus tios Olírio e Vanda e ao meu primo Adelcimar, grandes responsáveis por eu ter seguido o caminho da Medicina Veterinária e minha paixão pela Pecuária de Corte.

À toda minha família que sempre propiciou momentos de felicidade e conforto.

À minha namorada Monalissa, que sempre esteve comigo, mesmo longe, e sempre me incentivou e deu forças, fosse durante as conversas no almoço do Sr. Pedro, nas festas ou em casa. Obrigado por dar significado à palavra amor.

À Carla, Gabriel e Rafaela pelo convívio freqüente em sua casa e por dividirem momentos em família comigo.

Ao meu grande amigo Izaias, por ter me auxiliado na realização do Experimento 1 e por toda amizade e convívio durante o Mestrado em Botucatu.

Aos amigos de Pós-Graduação Ocilon, Catarina, Débora e Carolina, pelos ensinamentos, convívio e momentos de distração proporcionados.

Ao Mauro, pelo auxílio na execução do experimento 3.

À Fazenda Iberê em nome do Fausto e à Fazenda Santa Rosa em nome do Beto, por permitirem a realização dos experimentos.

Ao zootecnista Márcio Costa, pela amizade e pelo auxílio na realização desses experimentos.

Aos vaqueiros da Fazenda Iberê, que foram essenciais para realização desses experimentos, pela amizade e vários momentos de muita risada durante os meus cinco meses na fazenda: Luiz (Tiluiz), José Carlos (Zé), Joenilson (Bill), Geraldo, Aparecido (Guakica), Romys, Robson, Eliseu (Shrek), Luiz (Bugio), Wilson (Caiana), Sr. Gregório (Grigas), Sr. Ismael, Sebastião (Bastião), Sabonete (Dionicindo).

Aos demais moradores da Fazenda Iberê, em especial à Marli, Gabriel, André, Dona Cleci, Sr. Osvaldo, Carmen, Alessandra, Sr. José Antônio, Sr. Ciro, Sr. Tide, Sr. Tião, Tiago, Reginaldo e suas famílias pelas pessoas brilhantes que são e por sempre estarem dispostos a ajudar.

Aos estagiários Marcos e Fernando pela amizade, convívio e auxílio na execução dos experimentos.

Aos Professores Francisco Stephano Weschler e Henrique pelos imprescindíveis auxílios na análise estatística.

À Devani (UNESP – Araçatuba), pela realização de todas as dosagens de progesterona apresentadas nessa Dissertação.

À Pfizer Saúde Animal, em nome de Fernada Hoe, Rodrigo Valarelli e Augusto Sapede (Guto) por terem cedido todos os produtos utilizados nos experimentos realizados dessa dissertação e pela confiança depositada.

Aos professores da Universidade Federal de Uberlândia: Frederico Ozanam Carneiro e Silva, Dagmar Diniz Cabral e Elmo Gomes Diniz por permitirem meus primeiros contatos com pesquisa durante a Graduação.

Aos Professores Dr. José Buratini Júnior e Dr. Guilherme de Paula Nogueira por participarem da banca do Exame Geral de Qualificação e pelas sugestões pertinentes ao trabalho.

Aos Professores Dr. Ciro Moraes Barros e Dr. Pietro Sampaio Baruselli por participarem da banca da defesa de Mestrado, e pelas discussões e sugestões para melhoria do trabalho.

A todos os meus amigos da Universidade Federal de Uberlândia e a 52ª turma de Medicina Veterinária pelos excelentes momentos vividos. Muitas saudades!

A todos os meus amigos de Caçu-GO, por sempre me proporcionarem excelentes momentos em minha cidade.

A todos os amigos que fiz em Botucatu, em especial: todos os membros da CONAPEC Jr., Nara, Douglas, Rúbia, Gustavo, Rafael, Andréia, José Iran, Mariana, Lícia, Josy, Clarice, Elisa, Sandra, Rose, Ticiana, Renato, Mônica, Dani, Marô, Priscila, Michele, Monique, Henί e a todos os amigos da Pós-Graduação em Zootecnia.

Aos técnicos da Seção de Graduação ou Pós-Graduação da UNESP – Botucatu: Solange, Seila, Danilo, Barbosa e Val por sempre estarem dispostos a ajudar.

À todas as fazendas que fiz experimentos durante o Mestrado: Fazenda Novo Horizonte (Coxim-MS), Fazenda Água Preta (Cocalinho-MT), Fazenda Fortaleza (Caçu-GO), Fazenda Figueira (Londrina-PR), Fazenda Santa Encarnação (Bataguassu-MS), Fazenda São Pedro (Fernandópolis-SP) e Fazenda Iberê (Primavera do Leste-MT).

Às novilhas e vacas utilizadas nesse estudo, pela quantidade de informação disponibilizada.

E a todos que de alguma forma contribuíram para execução deste trabalho.

Obrigado a todos!

"Para alcançar grandes coisas devemos tanto atuar como sonhar, tanto planejar quanto crer. Mude, mas mude devagar, porque a direção é mais importante que a velocidade."

(Anatole Fransl)

"Hoje levantei cedo pensando no que tenho a fazer antes que o relógio marque meia noite. É minha função escolher que tipo de dia vou ter hoje. Posso reclamar porque está chovendo ou agradecer às águas por lavarem a poluição. Posso ficar triste por não ter dinheiro ou me sentir encorajado para administrar minhas finanças, evitando o desperdício. Posso reclamar sobre minha saúde ou dar graças por estar vivo. Posso me queixar dos meus pais por não terem me dado tudo o que eu queria ou posso ser grato por ter nascido. Posso reclamar por ter que ir trabalhar ou agradecer por ter trabalho. Posso sentir tédio com o trabalho doméstico ou agradecer a Deus. Posso lamentar decepções com amigos ou me entusiasmar com a possibilidade de fazer novas amizades. Se as coisas não saíram como planejei posso ficar feliz por ter hoje para recomeçar. O dia está na minha frente esperando para ser o que eu quiser. E aqui estou eu, o escultor que pode dar forma. Tudo depende só de mim."

(Charles Chaplin)

SUMÁRIO

Página

LISTA DE ABREVIATURAS..... i

LISTA DE TABELAS ii

LISTA DE FIGURAS iii

CAPÍTULO 1
Considerações Iniciais 1

1. INTRODUÇÃO 2

2. REVISÃO DE LITERATURA 4

2.1. Protocolos para sincronização da ovulação e IATF 4

2.1.1- IATF em vacas Nelore paridas 5

A- Anestro pós-parto 5

B- Remoção de bezerro (RB) 6

C- Godatrofina Coriônica Eqüina (eCG) 6

D- RB e eCG em protocolos de IATF 7

2.1.2- IATF em vacas solteiras 7

2.1.3- IATF em novilhas Nelore 8

2.2. Relação entre concentração de progesterona e fertilidade 9

2.2.1- Concentração de progesterona pré-IA 9

2.2.2- Concentração de progesterona pós-IA 11

2.3. Diâmetro folicular e taxa de ovulação 12

2.4. Efeito da maturidade folicular na taxa de concepção 12

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 18

CAPÍTULO 2
Efeito da concentração pré e pós-ovulatória de progesterona em protocolos de IATF em fêmeas Nelore..... 33

RESUMO 34

ABSTRACT 36

1. INTRODUÇÃO 38

2. MATERIAL E MÉTODOS 39

2.1. Experimento 1 39

2.1.1. Local experimental, animais e tratamentos 39

2.1.2. Exames ultra-sonográficos 40

2.1.3. Colheita das amostras de sangue pada dosagem de progesterona 40

2.1.4. Dosagem de progesterona sérica 41

2.1.5. Análise Estatística 41

2.2. Experimento 2 43

2.2.1. Local experimental, animais e tratamentos 43

2.2.2. Exames ultra-sonográficos 45

2.2.3. Colheita das amostras de sangue pada dosagem de progesterona 45

2.2.4. Dosagem de progesterona sérica 45

2.2.5. Análise Estatística 46

2.3. Experimento 3 47

2.3.1. Local experimental, animais e tratamentos 47

2.3.2. Exames ultra-sonográficos 49

2.3.3. Colheita das amostras de sangue pada dosagem de progesterona 49

2.3.4. Dosagem de progesterona sérica 49

2.3.5. Análise Estatística 49

3. RESULTADOS 50

3.1. Experimento 1 50

3.2. Experimento 2 59

3.3. Experimento 3 67

4. DISCUSSÃO 69

5. CONCLUSÃO 76

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 76

CAPÍTULO 3
Conclusões Gerais e Implicações 86

Conclusões Gerais e Implicações 87

SUMÁRIO DE ABREVIATURAS

BE – Benzoato de estradiol
CIDR – Dispositivo intravaginal de progesterona
CL – Corpo Lúteo
ECC – Escore de Condição Corporal
eCG – Gonadotrofina Coriônica Eqüina
ECP – Cipionato de Estradiol
E_2 – Estradiol
FD – Folículo Dominante
FSH – Hormônio Folículo Estimulante
GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
LH – Hormônio Luteinizante
P_4 – Progesterona
PGF2α – Prostaglandina F2alfa
RB – Remoção temporária do bezerro

SUMÁRIO DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 1

Tabela 1..... 14

Resumo dos resultados de 4 experimentos realizados em novilhas *Bos taurus*. A taxa de concepção incluiu apenas animais que tiveram ciclo estral subseqüente ao tratamento de duração normal. Experimentos (Exp) 1: Mussard et al. (2002); Exp 2: Mussard et al. (2003a); Exp 3: Mussard et al. (2003b). Exp 4: Bridges et al. (2004)

CAPÍTULO 2

Tabela 1..... 50

Valores descritivos da concentração sérica de progesterona no dia 9 de novilhas que receberam CIDR de 1º ou 3º uso, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Tabela 2..... 57

Taxa de sincronização, concepção e prenhez de novilhas Nelore que receberam dispositivo intravaginal de progesterona novo ou previamente utilizado por 18 dias, com aplicação de 0, 200 ou 300 UI de eCG, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Tabela 3..... 60

Valores descritivos da concentração sérica de progesterona no dia 9 de vacas solteiras que receberam prostaglandina no dia 7 ou 9, Primavera do Leste-MT, 2008

Tabela 4..... 67

Taxa de sincronização, concepção e prenhez de vacas Nelore solteiras com aplicação de prostaglandina no dia 7 ou 9 e que receberam ou não 300 UI de eCG, Primavera do Leste-MT, 2008

Tabela 5..... 68

Taxa de prenhez de vacas Nelore paridas que receberam prostaglandina no dia 7 ou 9, com ou sem corpo lúteo no dia 7 de três propriedades dos estados de Goiás, Mato Grosso e Paraná, 2008

SUMÁRIO DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 2

Figura 1..... 40

Diagrama esquemático do experimento 1; US1: avaliação da presença de CL; D0: aplicação de 2 mg de BE (Bezoato de Estradiol) e inserção do dispositivo intravaginal de progesterona novo (1º Uso) ou utilizado previamente por 18 dias (3º Uso); D9: remoção do dispositivo de progesterona, aplicação de 0,5 mg de ECP (Cipionato de Estradiol), de 12,5 mg de PGF (Prostaglandina) e divisão dos animais para receber 0, 200 ou 300 UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Eqüina); Sg 1: coleta de sangue no dia 9 do protocolo; D11: IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e US2: medida do diâmetro do maior folículo; D18: Sg 2 – coleta de sangue 7 dias após a IATF; D41: DG US3 - diagnóstico de gestação por ultra-sonografia 30 dias após a IATF

Figura 2..... 44

Diagrama esquemático do experimento 2; D0: aplicação de 2 mg de BE (Bezoato de Estradiol) e inserção do dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de progesterona; D7: aplicação de 12,5 mg de PGF (prostaglandina) em metade dos animais; D9: remoção do dispositivo de progesterona, aplicação de 0,5 mg de ECP (Cipionato de stradiol), de 12,5 mg de PGF na outra metade dos aniamais e divisão dos animais para receber 0 ou 300 UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Eqüina); Sg 1: coleta de sangue no dia 9 do protocolo em uma amostragem dos animais; D11: IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e US2: medida do diâmetro do maior folículo; D18: Sg 2 – coleta de sangue 7 dias após a IATF; D41: DG US3 - diagnóstico de gestação por ultra-sonografia 30 dias após a IATF

Figura 3..... 48

Diagrama esquemático do experimento 3; D0: aplicação de 2 mg de BE (bezoato de estradiol) e inserção do dispositivo intravaginal de progesterona sem prévio uso ou previamente utilizado por 9 ou 18 dias; D7: US1 – avaliação da presença de CL e aplicação de 12,5 mg

dispositivo de progesterona, aplicação de 0,5 mg de ECP (cipionato de estradiol), de 12,5 mg de PGF na outra metade dos animais e remoção dos bezerros de suas mães por 48 horas; IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e retorno dos bezerros com suas mães.D41: DG US2 - diagnóstico de gestação por ultra-sonografia 30 dias após a IATF

Figura 4..... 51

Distribuição das novilhas de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam CIDR de 1º ou 3º uso, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 5..... 51

Distribuição das novilhas de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam CIDR de 1º ou 3º uso, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 6..... 52

Diâmetro do maior folículo no momento da IATF de acordo com a concentração de progesterona no dia 9 do protocolo, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 7..... 53

Relação entre o diâmetro do maior folículo e a concentração de progesterona no dia 18, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 8..... 54

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de sincronização de novilhas Nelore, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 9..... 54

Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de sincronização de novilhas Nelore, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 10..... 55

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de concepção de novilhas Nelore, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 11..... 56

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de concepção de novilhas Nelore que receberam 0, 200 ou 300 UI de eCG, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 12..... 56

Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de concepção de novilhas Nelore, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 13..... 57

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 18 na probabilidade de concepção de novilhas Nelore, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008

Figura 14..... 58

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de manifestar cio em novilhas Nelore, Xinguara-PA, 2008

Figura 15..... 59

Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de manifestar cio em novilhas Nelore, Xinguara-PA, 2008

Figura 16..... 60

Distribuição das vacas de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam PGF no dia 7 ou 9, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 17..... 61

Distribuição das vacas de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam PGF no dia 7 ou 9, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 18..... 62

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 no diâmetro do maior folículo no momento da IATF de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 19..... 62

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 no diâmetro do maior folículo no momento da IATF de vacas solteiras de acordo com a aplicação de eCG no dia 9, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 20..... 63

Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na concentração sérica de progesterona no dia 18 de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 21..... 64

Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de sincronização de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 22..... 65

Efeito do escore de condição corporal na taxa de concepção de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 23..... 65

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de concepção de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 24..... 66

Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de concepção de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 25..... 66

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 18 na probabilidade de concepção de vacas solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008

Figura 26..... 68

Efeito do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas Nelore paridas de três propriedades dos estados de Goiás, Mato Grosso e Paraná, 2008

Figura 27..... 69

Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na taxa de prenhez de vacas Nelore paridas, Mato Grosso, 2008

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1 - INTRODUÇÃO

A agropecuária representou 25,1% na participação do Produto Interno Bruto brasileiro no ano de 2007, representando um crescimento de 8,0% em relação ao ano de 2006 (CEPEA-USP/CNA, 2007).

Em 2006, o Brasil possuía 169.900.049 cabeças bovinas segundo dados do Censo Agropecuário (IBGE, 2008). Estima-se que desse rebanho 70,0% dos animais sejam classificados como aptidão para corte e 40,7% desses animais são novilhas de 2 a 3 anos e vacas (ANUALPEC, 2007), totalizando aproximadamente 48 milhões de fêmeas de corte em reprodução.

O cenário atual tem exigido eficiência no sistema de produção de bovinos de corte devido à crescente demanda por alimentos no mundo. A preocupação em busca de produção de energia (biocombustível) e mudanças climáticas contribuíram para a diminuição na oferta de alimentos. Concomitantemente, está havendo grande aumento na demanda devido ao crescimento econômico de países emergentes.

A lucratividade do sistema de produção de gado de corte está intimamente relacionada com a eficiência reprodutiva do rebanho. O objetivo deve ser sempre focado em obter um bezerro por vaca por ano, porém o período de gestação médio de 290 dias das fêmeas zebuínas e o prolongado anestro pós-parto representam entraves ao sucesso a este objetivo.

O anestro pós-parto é a maior limitação para um bom desempenho reprodutivo de vacas com cria ao pé. O status nutricional (WILTBANK et al., 1962), a presença do bezerro (FONSECA et al., 1981; FONSECA et al., 1987; DISKIN et al., 2001), a idade da vaca (PERES e SIMIONI, 2005) e a presença de touros (FERNANDEZ et al., 1996) são fatores que influenciam no anestro pós-parto e desempenho reprodutivo durante a estação de monta.

A inseminação artificial (IA) é uma importante ferramenta para a rápida dispersão de genes superiores a fim de melhorar a qualidade genética dos rebanhos. Cerca de 3,8 milhões de doses de sêmen de corte foram comercializadas no ano de 2007, segundo a ASSOCIAÇÃO BRASILSEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL (ASBIA). Considerando uma taxa de concepção em torno de 50,0 a 60,0%, pode-se inferir que cerca de 1,9 a 2,3 milhões de vacas de corte terão bezerros provenientes de IA no ano de 2008, ou seja, entre 4,0 a 5,0% do total de fêmeas em idade reprodutiva.

A grande proporção de animais em anestro no início da estação de monta (MENEGHETTI et al., 2005a; PERES et al., 2007a) e as limitações na detecção de cio

(PINHEIRO et al., 1998; FIGUEIREDO et al., 1997) são um entrave à disseminação da técnica de IA a fêmeas zebuínas. Essas fêmeas apresentam estro de menor duração quando comparadas às fêmeas taurinas (12,9h vs. 16,3h; BÓ et al., 2003) e de maior probabilidade de ocorrência noturna, iniciando-se durante a noite (60%) ou mesmo ocorrendo apenas durante o período noturno (40%; PINHEIRO et al., 1998).

Para otimizar a utilização da IA, foram desenvolvidos tratamentos que permitem a inseminação de 100% dos animais trabalhados em tempo pré-determinado (IATF), sem necessidade da observação de cio. A IATF permite induzir ciclicidade em animais em anestro, manejo concentrado dos animais e facilita a distribuição da mão-de-obra na fazenda (PURSLEY et al., 1995; VASCONCELOS, 1994; DAY, 2005). Essa técnica permite incorporar genética de qualidade no rebanho e minimizar os efeitos do anestro pós-parto e de falhas de observação de cio.

Protocolos de IATF em novilhas Nelore cíclicas (BARUSELLI et al., 2001; DIAS, 2007) e vacas solteiras (VALARELLI e VASCONCELOS, 2006) apresentam resultados na taxa de prenhez inferiores aos de vacas paridas. As causas desta menor fertilidade podem estar relacionadas à taxa de sincronização (SÁ FILHO et al., 2005) ou a fatores que influenciam a taxa de concepção (DIAS, 2007). Dentre os fatores que podem influenciar a concepção temos a maturação folicular e o ambiente uterino gerado durante e após o desenvolvimento folicular. Estes fatores influenciam a taxa de prenhez por diminuírem a taxa de concepção nos animais sincronizados (SIROIS e FORTUNE, 1990; MIHM et al., 1994; REVAH e BUTTLER, 1996; MUSSARD et al., 2002; MUSSARD et al., 2003a; PERRY et al., 2005). Essas categorias quando são inseminadas após observação de cio convencional apresentam taxa de concepção satisfatória (PERES et al., 2007b). Em comum, vacas solteiras e novilhas cíclicas apresentam alta porcentagem de animais com presença de corpo lúteo durante o protocolo de sincronização da ovulação.

Carvalho et al. (2008) avaliaram o desenvolvimento folicular de novilhas zebuínas sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona e atribuíram a baixa taxa de ovulação ao final do protocolo (39,1%) à alta concentração sérica de progesterona (P_4) durante o tratamento. Em estudo recente, Dias (2007) sincronizou novilhas Nelore com um protocolo de IATF (dispositivo intravaginal de P_4 por 9 dias) com aplicação de PGF2α no dia 7 e concluiu que no dia 7 não houve efeito da concentração sérica de P_4 na taxa de prenhez, concepção e sincronização e inferiu que caso a alta P_4 possa prejudicar a taxa de ovulação esse efeito seja após o dia 7 do protocolo.

Portanto, é necessário maior conhecimento sobre os efeitos da alta concentração de progesterona durante protocolos de IATF em fêmeas zebuínas, assim como a busca por alternativas para solucionar ou amenizar esses efeitos.

2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – Protocolos para sincronização da ovulação e IATF

A linha de tratamentos hormonais que tem sido mais usualmente utilizada no Brasil para sincronização da ovulação e IATF consiste na utilização de dispositivos de P_4 ou implantes contendo progestágeno associados a tratamentos com estradiol para sincronizar a emergência da onda de crescimento folicular (BÓ et al., 1995; VASCONCELOS et al., 1994). O tratamento convencional consiste na aplicação de benzoato de estradiol (BE; 2,0 mg; i.m.) no momento da inserção de um dispositivo/implante de P_4 (Dia 0), aplicação de PGF2α no momento da retirada do dispositivo/implante (Dia 8 ou 9) e aplicação de 1,0 mg de BE 24 horas após, sendo a IATF realizada 30 a 36 horas após o BE (54 a 60 horas após a retirada dos dispositivos).

Burke et al. (1996) relataram que em vacas ovariectomizadas, a P_4 inibiu por curto período a secreção de LH (36h) e não teve efeito sobre a secreção de FSH. Entretanto, quando benzoato de estradiol foi adicionado no início do tratamento com CIDR®, a supressão de LH foi prolongada e a secreção de FSH deprimida. A administração conjunta de P_4 e E_2 promove supressão de LH e FSH, promovendo início sincronizado de uma nova onda (BURKE et al., 2001; BÓ et al., 2003). O tipo de estradiol e a dose administrada podem interferir no momento da emergência da onda folicular (BURKE et al., 2002).

Vários autores têm estudado estratégias para melhorar índices reprodutivos em fêmeas submetidas a protocolos de IATF. Sá Filho et al. (2003) relataram que em novilhas cruzadas *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* ciclando, quando a injeção de PGF2α foi aplicada 2 dias antes da retirada do dispositivo de P_4 as novilhas tenderam a apresentar maior taxa de concepção em relação às novilhas que receberam PGF2α no momento da retirada dos dispositivos (64,0% vs. 39,9%). Os autores sugeriram que com a antecipação da luteólise, a P_4 subluteal proveniente do dispositivo intravaginal de P_4 permitiu o aumento da pulsatilidade de LH, levando ao provável aumento no diâmetro do folículo dominante, e subseqüente CL.

Meneghetti et al. (2005b) e Penteado et al. (2006) avaliaram a substituição da aplicação de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção do dispositivo de P_4 /

implante de norgestomet por 0,5 ou 1,0 mg de cipionato de estradiol no momento da retirada dos dispositivos. Meneghetti et al. (2005b) verificaram que a aplicação de 0,5 ou 1,0 mg de cipionato de estradiol é igualmente eficiente à aplicação de BE na taxa de prenhez de vacas Nelore paridas. Penteado et al. (2006) concluíram que o uso de 1,0 mg de cipionato de estradiol permitiu taxa de prenhez semelhantes à aplicação de BE 24 horas após, e apresentou melhores resultados que a aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol. A diferença no tempo de permanência do dispositivo / implante de P_4 entre os estudos (9 dias; MENEGHETTI et al., 2005b vs. 8 dias; PENTEADO et al., 2006) pode ser o motivo da diferença nos resultados, pois animais que permaneceram com dispositivo por um dia a mais, tiveram um período de crescimento folicular 24 horas maior e esse fator poderia permitir o uso de uma menor dose de cipionato de estradiol. As vantagens com a utilização de cipionato de estradiol estão relacionadas principalmente à diminuição do número de vezes que os animais precisam passar no curral para serem manejados.

2.1.1 - IATF em vacas Nelore paridas

A - Anestro Pós-Parto

O anestro pós-parto é o período de transição, durante o qual a funcionalidade do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano-uterino se recupera da prenhez anterior. As primeiras três semanas após o parto são necessárias para a involução uterina e reposição dos estoques hipofisários do hormônio luteinizante (LH) e início do desenvolvimento folicular (YAVAS & WALTON, 2000).

A duração do anestro pós-parto é influenciada por quatro fatores principais: balanço energético, presença do bezerro, estação do ano e número de partos. Influem também a raça, presença de touro, gemelaridade, distocia e retenção de placenta (YAVAS & WALTON, 2000).

A fisiologia da condição anovulatória que ocorre em novilhas na fase pré-púbere e em vacas no período pós-parto é muito semelhante. Nestes casos, o crescimento folicular ultrapassa a fase de divergência e atinge a dominância; no entanto, não ocorre ovulação, há perda da dominância, atresia do folículo dominante (FD) e emergência de nova onda de crescimento folicular (STAGG et al., 1995).

A intensidade do balanço energético negativo em bovinos de leite (BUTLER, 2000) e corte e/ou a amamentação em bovinos de corte (GARCIA-WINDER, 1984) aumentam efeito inibitório do estradiol na secreção do hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo durante o anestro pós-parto. Isto acarreta

redução dos pulsos de LH e falha no crescimento folicular final. A menor freqüência de pulsos de LH impede a ocorrência do pico pré-ovulatório de estradiol, GnRH e LH, e conseqüentemente a ovulação (YAVAS et al., 2000).

B- Remoção de Bezerro (RB)

De acordo com Nett et al. (1987), após o restabelecimento das reservas de LH na adeno-hipófise, a ausência de pulsos de LH se torna dependente da sucção. Esses autores demonstraram que o efeito da sucção em vacas de corte é o principal fator que afeta a duração do anestro pós-parto e sugeriram que o comportamento maternal é mais importante que o ato da sucção em si para regular a freqüência de pulsos de LH, o qual é o fator endócrino chave para se determinar a ovulação ou não do folículo dominante (STAGG et al., 1998).

Williams et al. (1983) verificaram aumento no número de pulsos de LH em animais que sofreram RB por 48 horas em relação aos animais que não sofreram RB (3,0 vs. 1,2 pulsos em 6 horas).

O uso da RB é geralmente associada a programas de sincronização de cio ou ovulação. A RB deve ser realizada por 48 horas e sempre associada a estímulo ovulatório exógeno ou implantes de progestinas (WILLIAMS et al., 1983).

Vasconcelos et al. (2008a) verificaram que a estratégia de RB por 48 horas foi eficiente em aumentar a quantidade de fêmeas em cio e que a utilização conjunta com dispositivo intravaginal de P_4 proporciona maior taxa de prenhez por aumentar a porcentagem de fêmeas em cio e a taxa de concepção em vacas mestiças Nelore x Angus.

Em outro estudo, Vasconcelos et al. (2008b) obtiveram maior taxa de prenhez no protocolo GnRH – 7 dias - PGF2α – 1 dia – BE – 30 horas – IATF quando foram realizadas duas RB por 48 horas (previamente ao GnRH e após a PGF2α) e sugerem que o efeito deve ser devido a maior resposta aos estímulos ovulatórios (GnRH e BE) quando a RB é realizada.

C- Gonadotrofina Coriônica Eqüina (eCG)

Allen e Moor (1972) descobriram que a eCG é produzida pelas células trofoblásticas presentes nos cálices endometriais de éguas prenhes entre 40 a 130 dias de gestação.

A eCG é uma gonadotrofina capaz de se ligar a receptores de LH e FSH quando aplicada em outros mamíferos (MURPHY e MARTINUK, 1991). Por isso, a eCG

estimula o crescimento folicular (SÁ FILHO et al., 2004), aumenta a taxa de ovulação (SÁ FILHO et al., 2004; BARUSELLI et al., 2004a; SÁ FILHO et al. 2005b) e a concentração de progesterona no diestro subseqüente à IATF em vacas de corte (STEWART e ALLEN, 1981) e leite (SOUZA, 2008).

D- RB e eCG em protocolos de IATF

Meneghetti et al. (2006) avaliaram a utilização da RB por 48 horas ou a administração de 300 ou 400 UI de eCG ao final do protocolo (momento da retirada dos dispositivos de P_4) de IATF em vacas Nelore paridas. A utilização da RB ou a aplicação de 400 UI de eCG aumentaram a taxa de prenhez em relação ao grupo controle (51,3%; 54,5% vs. 41,5%). Martins Jr. et al. (2005) estudaram o efeito da adição de 0, 200 ou 400 UI de eCG no dia da retirada dos dispositivo de P_4 em protocolo com RB por 48 horas. Não houve efeito da aplicação de eCG quando se realiza RB (59,2%; 55,6%; 58,1%). Penteado et al. (2004) verificaram que a aplicação de 400 UI de eCG ou a RB são eficientes em aumentar a taxa de prenhez em protocolos de IATF. Baruselli et a. (2004b) avaliaram o efeito da eCG em diferentes escores de condição corporal (ECC) e houve interação entre eCG e ECC. Vacas com pior ECC (menor ou igual a 3,0) apresentaram melhor taxa de prenhez quando eCG foi utilizada [sem eCG – 22,7%, 42,8%, 53,9%, 52,1% e 69,6% vs. com eCG – 47,6%, 56,9%, 58,4%, 51,7% e 63,8%, respectivamente para os ECC 2,0, 2,5, 3,0, 3,5 e 4,0].

2.1.2 - IATF em vacas solteiras

Não foram encontrados trabalhos científicos que avaliaram diferentes protocolos de IATF em vacas zebuínas solteiras. No entanto, Valarelli e Vasconcelos (2006) avaliaram resultados de 7.527 IATF e verificaram que vacas solteiras apresentaram pior taxa de prenhez em relação às vacas multíparas paridas (39,4% vs. 50,5%) utilizando o mesmo protocolo de sincronização da ovulação.

Geralmente, atribui-se o pior resultado ao fato de a vaca não ter emprenhado durante a estação de monta, sendo considerada um animal de fertilidade inferior. No entanto, em caso de déficit nutricional durante a estação de monta ou atraso na estação de parição, pode-se concluir erroneamente quando à fertilidade dos animais.

Grande parte dos técnicos indica o descarte de vacas que não emprenharam até o término da estação de monta. Em situações específicas como alta porcentagem de vacas vazias ao final da estação de monta, valor alto de fêmeas para reposição ou

falta de animais para reposição pode ser interessante manter parte das fêmeas vazias no rebanho.

2.1.3 - IATF em novilhas Nelore

Sá Filho et al. (2005b) compararam a inserção de um dispositivo intravaginal de P_4 (CIDR®) com um implante auricular de progestágeno (Norgestomet, Crestar®) em novilhas Nelore e verificaram menor taxa de ovulação ao final do protocolo no grupo de animais tratados com CIDR® (57,1 % vs. 83,3 %), provavelmente devido à inibição dos pulsos de LH pelo dispositivo intravaginal de P_4.

Dias (2007) estudou o efeito da concentração de P_4 no início do protocolo (dia zero) e sete dias após (dia sete) de um protocolo de nove dias em novilhas Nelore e verificou que novilhas que apresentaram maior concentração de progesterona no dia zero apresentaram maior taxa de prenhez e que não houve efeito da concentração de progesterona no dia sete (momento da PGF2α) do protocolo na taxa de prenhez. A autora sugere que caso haja efeito da concentração de progesterona durante o protocolo na fertilidade de novilhas zebuínas, esse efeito seja após o dia sete, ou seja, após o momento do desvio folicular.

Carvalho et al. (2008) avaliaram o momento da aplicação da PGF2α (início e fim do protocolo vs. somente no fim) e o efeito do grupo genético em um protocolo de sincronização que consistia da aplicação de benzoato de estradiol associado a dispositivo intravaginal de P_4 no dia zero. Os autores verificaram que a aplicação de PGF2α no dia zero do protocolo proporcionou um maior diâmetro folicular (12,7 mm vs. 11,6 mm) e maior taxa de ovulação (79,4% vs. 52,7%) em relação às novilhas que receberam PGF2α somente ao final do protocolo. Novilhas zebuínas tiveram menor taxa de ovulação em relação a cruzadas e taurinas (39,1%; 84,0% e 72,7%, respectivamente). Nesse mesmo estudo, novilhas que não receberam PGF2α no dia zero obtiveram maior concentração de P_4 do dia três ao dia oito do protocolo. Novilhas zebuínas apresentaram maior concentração de P_4 a partir do dia três do protocolo de sincronização. O momento do início da onda folicular não diferiu entre os tratamentos. Os autores atribuem o menor crescimento folicular e menor taxa de ovulação em novilhas Nelore a uma maior concentração de P_4 durante o protocolo. É importante ressaltar que nesse experimento as novilhas foram pré-sincronizadas com duas aplicações de PGF2α com intervalo de 12 dias, portanto, a maioria delas estaria com alta concentração de P_4 ao final do protocolo de sincronização.

Marques et al. (2005) sincronizaram novilhas Nelore com dispositivo intravaginal de P_4 e verificaram que a aplicação de PGF2α no início do protocolo não aumentou a taxa de prenhez (sem PGF2α – 24,7% vs. com PGF2α – 25,8%) . No entanto, houve efeito da aplicação de 400 UI de eCG na taxa de prenhez (sem eCG - 15,7% vs. com eCG - 34,9%). O status ovariano influenciou a taxa de prenhez (com CL – 27,6% vs. sem CL – 20,3%).

Baruselli et al. (2004a) observaram que com a aplicação de 400 UI de eCG ao final de um protocolo de sincronização com dispositivo intravaginal de P_4 houve aumento na taxa de ovulação (50,0% vs. 76,0%) e aumento na concentração sérica de P_4 no sétimo dia após a ovulação (2,22 ng/ml vs. 4,31 ng/ml) sem alterar o diâmetro do maior folículo.

2.2 - Relação entre concentração de progesterona e fertilidade.

2.2.1 – Concentração de progesterona pré-IA

Alguns estudos em gado de leite sugerem que altas concentrações de P_4 podem diminuir a freqüência dos pulsos de LH e o crescimento folicular (IRELAND e ROCHE, 1992; ROBERSON et al., 1989). Concentrações subluteais de P_4 tem sido associadas a um maior crescimento folicular (SAVIO et al., 1993).

Taft et al. (1996) mostraram que a freqüência dos pulsos de LH era importante na manutenção do folículo dominante, e a extensão com que a progesterona inibia a secreção de LH determinava a duração do folículo dominante. Rahe et al. (1980) observaram que durante a fase lútea, quando os níveis de progesterona estavam entre cinco a oito ng/ml, a freqüência de pulsos de LH era baixa (um pulso a cada quatro horas) e o folículo dominante entrava em atresia. Quando a concentração de progesterona foi mantida entre um a dois ng/ml, a freqüência de pulsos de LH aumentava (um ou mais pulsos a cada duas horas) e o folículo dominante era mantido em crescimento, elevando as concentrações de estradiol (STOCK e FORTUNE, 1993; SAVIO et al., 1993; AHMAD et al., 1995).

O tempo de dominância pelo folículo dominante pode ser estendido, ou reduzido, pelo aumento ou decréscimo na freqüência dos pulsos de LH (SAVIO et al., 1993; LUCY et al., 1992) indicando uma relação entre o LH e o tamanho do folículo dominante.

Folman et al. (1973), Folman et al. (1990) e Fonseca et al. (1983) observaram menor taxa de concepção em vacas leiteiras que apresentaram menor concentração plasmática de progesterona pré-IA. Mihm et al. (1994) analisando tratamentos com

progestágenos no final da fase lútea, detectaram aumento no período de dominância do folículo, com redução significativa na taxa de prenhez. A indução da persistência do folículo dominante da primeira onda resultou em queda significativa da taxa de concepção em novilhas leiteiras (SAVIO et al., 1993) e em vacas e novilhas de corte (SANCHEZ et al., 1993). Revah e Butler (1996) avaliaram o efeito do prolongamento do tempo de dominância do folículo ovulatório na qualidade do oócito e verificaram que os oócitos de folículos com maior período de dominância, iniciavam a ativação prematura da meiose. Sugeriram ser, esta, a causa de menor fertilidade após a sincronização de cio com progestágenos por mais de sete dias. Por outro lado, Thatcher e Hansen (1992), Ahmad et al. (1995) e Shaham-Albalancy et al. (1996), encontraram que altas concentrações de estradiol, devido à presença de folículos persistentes, poderiam influenciar as condições das tubas uterinas e/ou do útero, podendo ser a causa da menor fertilidade, quando da presença de folículos persistentes.

Estudos de Shaham-Albalancy et al. (2001) mostraram que a baixa concentração de P4 em um ciclo estral resulta em alta produção de PGF2α no ciclo estral subseqüente, o que pode comprometer o sucesso da inseminação, devido à baixa capacidade da progesterona em bloquear os receptores de ocitocina no útero, facilitando a ocorrência da luteólise.

Em contrapartida, Henricks et al. (1971) avaliaram o desenvolvimento embrionário no terceiro dia após a cobertura por monta natural em novilhas de corte e verificaram maior desenvolvimento embrionário nas fêmeas que apresentavam menor concentração de P_4 um ou dois dias anteriores ao momento do cio. Esse trabalho sugere haver uma relação inversa entre a concentração de P_4 imediatamente antes ao estro e desenvolvimento embrionário três dias após a cobertura.

Em trabalhos com novilhas Nelore, Dias (2007) e Carvalho et al. (2008) sugerem um efeito prejudicial de alta concentração de P_4 pré-IA no desempenho desses animais quando submetidos à IATF. Carvalho et al. (2008) sugere que pode haver um menor metabolismo da P_4 em novilhas Nelore quando comparadas com cruzadas ou taurinas e esse menor metabolismo contribuiria para manter maior concentração de P_4 em novilhas zebuínas.

Dias (2007) sincronizou novilhas com o protocolo BE + CIDR – 7 dias – PGF2α – 2 dias – Retira CIDR + ECP – 2 dias – IATF e não houve efeito da concentração de P_4 no dia sete (momento da aplicação de PGF2α) na taxa de prenhez à IATF. Porém nesse momento havia a presença do dispositivo de P_4 e do CL. Como a luteólise foi

induzida no D7, a P_4 restante seria resultante apenas do dispositivo. Nesse experimento, houve efeito da pré-utilização de CIDR (novo, ou previamente utilizado por 9 ou 18 dias) na taxa de prenhez (20,5%, 22,7% e 35,5%) e concepção (37,2%, 37,8% e 53,2%). A autora sugere que pode haver um efeito da concentração de P_4 após o dia 7, e esse efeito seria proveniente do dispositivo intravaginal.

Em outro estudo, Colazo et al. (2008) verificaram que novilhas com menor concentração de P_4 apresentaram melhor taxa de ovulação (90% para baixa P_4 e 30% para alta P_4), demonstrando que a quantidade excessiva de P4 interferiu no desenvolvimento folicular e capacidade ovulatória ao estímulo de GnRH.

Cipriano (2007) estudou o efeito de diferentes concentrações de P_4 durante um protocolo de sincronização de ovulação em novilhas Nelore e verificou que a alta concentração de P_4 provocou taxa de ovulação insatisfatória (11%) quando o estímulo ovulatório utilizado foi o benzoato de estradiol.

Alguns estudos sugerem que receptores de GnRH na hipófise podem ser regulados pelo próprio GnRH (NETT et al., 2002) e que altas concentrações de P_4 causam diminuição nos pulsos de GnRH, minimizando a formação de receptores de GnRH na hipófise, podendo diminuir a taxa de ovulação (TURZILLO et al., 1995).

Colazo et al. (2008) sugerem que provavelmente as fêmeas do grupo com menor P_4 tenderam a apresentar maior estradiol em conseqüência da maior pulsatilidade de LH. O estradiol aumenta a responsividade da hipófise ao GnRH devido ao aumento de seus receptores (NETT et al., 2002) ou por uma ação direta estimulando a secreção de LH (BARATTA et al., 2001).

Esses dados em conjunto sugerem que alta concentração de P_4 ao final do protocolo prejudica os resultados de IATF em novilhas Nelore.

2.2.2 – Concentração de progesterona Pós-IA

O efeito da concentração de P_4 pós-IA na taxa de concepção tem sido bastante estudada, mas os resultados são variáveis em gado de leite e corte (HENRICKS et al, 1971; MANN e LAMMING, 1999; MANN et al., 2003; NOGUEIRA et al., 2004; McNEIL et al., 2006; STARBUCK et al., 2006; DEMÉTRIO et al, 2007).

A sincronia entre o ambiente uterino e o embrião é essencial para maximizar a sobrevivência embrionária, sendo a P_4 importante por controlar mudanças no útero, além de influenciar o crescimento embrionário (GEISERT et al., 1992).

Garret et al. (1988) demonstraram que a administração de P_4 pós-IA melhorou o desenvolvimento dos embriões, que eram maiores e apresentaram maior secreção de proteínas, indicando serem mais maturos e funcionais. O desenvolvimento do embrião é crítico para suprimir a secreção de PGF2α e manter o corpo lúteo, pois, a secreção de interferon-Tau está relacionada com o desenvolvimento do embrião, e é necessária para inibir a secreção de PGF2α pelo útero (THATCHER e HANSEN,1992). Mann e Lamming (1995) observaram relação inversamente proporcional entre concentração de P_4 e PGFM, podendo ser esta a explicação para o fato de vacas com menor concentração de P_4 apresentarem menor taxa de concepção. Fonseca et al. (1983) encontraram que as concentrações de P_4 pós-IA foram maiores em vacas que concebiam, enquanto Robinson et al. (1989) e Macmillan et al. (1991) observaram que implantes intravaginais de P_4 pós-IA aumentavam a taxa de concepção em vacas.

Baruselli et al. (2004a) verificaram que a administração de 400 UI de eCG em novilhas Nelore foi eficaz em aumentar a P_4 sete dias após a ovulação (4,31 vs. 2,22 ng/ml). Em outro estudo, Marques et al. (2003) observaram maior concentração de P_4 em primíparas lactantes Nelore x Angus quando eCG foi aplicada ao final do protocolo (8,6 vs. 6,4 ng/ml)

2.3 - Diâmetro folicular e taxa de ovulação

Perry et al. (2005) demonstraram que vacas induzidas a ovular folículos menores que 11 mm com GnRH apresentam menor taxa de prenhez e aumento na mortalidade fetal e que quando vacas ovularam folículos com diâmetro de 11 mm espontaneamente, esses efeitos não foram verificados. Os autores sugerem que a indução da ovulação quando o folículo não está fisiologicamente maduro tem impacto negativo nas taxas de prenhez, indicando que a maturidade não está relacionada somente ao diâmetro folicular, pois vacas que ovularam espontaneamente folículos menores apresentaram satisfatória taxa de prenhez.

Perry et al. (2007) verificaram que novilhas que ovularam espontaneamente ou após estímulo com GnRH folículos com diâmetro entre 10,8 e 15,6 mm apresentaram melhor taxa de prenhez e que 28,0% das novilhas ovularam folículos com diâmetro menor que 10,7 mm, constituindo um agravante na taxa de prenhez dessa categoria animal. Portanto, estratégias que levam ao aumento do diâmetro folicular, potencialmente melhoram a taxa de prenhez em novilhas.

Mussard et al. (2002) relataram que folículos de 9,2 a 10,5 mm foram capazes de ovular, estabelecer gestação e os fetos estavam presentes aos 60 dias de prenhez. Os autores implicaram que a maturidade do folículo é mais importante que o diâmetro do folículo e que o intervalo entre o momento da regressão do CL até o pico de LH pode interferir na maturidade folicular.

2.4 - Efeito da maturidade folicular na taxa de concepção em protocolos de IATF

A ovulação de folículos imaturos (PERRY et al., 2007) ou persistentes (SIROIS e FORTUNE, 1990) representa limitações a bons resultados de prenhez em protocolos de IATF.

Day (2005) demonstraram que a maturidade folicular é um parâmetro essencial e que deve ser considerado na implementação de programas para IATF. Para estudar o efeito da influência da ovulação de folículos imaturos, Mussard et al. (2002, 2003a, 2003b) e Bridges et al. (2004) desenvolveram um modelo que controla a idade e tamanho do folículo ovulatório e a duração do proestro (intervalo da regressão do CL até o pico de LH). Mussard et al. (2002), ao induzir a ovulação de um folículo imaturo de 10 mm e de menor idade quando comparado ao de animais que ovularam espontaneamente, observaram menor taxa de concepção (75,9%) em relação à ovulação espontânea (100%) e menor concentração de progesterona no ciclo subseqüente (5,4 $\pm$ 0,2 vs. 6,2 $\pm$ 0,3 ng/ml). Concluiu-se que a taxa de concepção e a função lútea estão comprometidas quando a ovulação de folículos imaturos é induzida. Nesse estudo, a aplicação de PGF2α foi realizada no dia do início da onda sincronizada após aspiração folicular e a taxa de concepção e porcentagem de duplas ovulações foram altas. Os autores discutiram a possibilidade do momento da aplicação da PGF2α ter influenciado esses parâmetros.

Em outro experimento, Mussard et al. (2003a) compararam a função lútea e a taxa de concepção de folículos grandes e maduros (13 mm) e folículos pequenos e imaturos (10 mm), ambos induzidos a ovular com GnRH, e observaram menor taxa de concepção [4,4% (2/45) vs. 57,4% (31/54)] e menores concentrações de progesterona na fase lútea média nas novilhas do grupo que ovulou folículos de <10 mm (4,9 $\pm$ 0,2 vs. 5,5 $\pm$ 0,2 ng/ml). A modificação do momento da injeção de GnRH, resultou em diminuição do diâmetro do folículo ovulatório (11,2 $\pm$ 0,2 vs. 13,6 $\pm$ 0,2mm), idade do folículo dominante (5,4 $\pm$ 0,1 vs. 6,6 $\pm$ 0,1 dias) e da duração do proestro (1,0 $\pm$ 0,1 vs. 2,2 $\pm$ 0,1 dias) para folículos induzidos a ovular com <10 mm comparados a folículos

de >13 mm. Nesse experimento, a PGF2α foi aplicada 4,1 dias após a aspiração do folículo dominante para sincronização da onda folicular. Quando comparado a aplicação de PGF2α no experimento anterior, a aplicação de PGF2α no dia 4,1 comparado ao dia 1,5 pode ter contribuído para a diminuição da porcentagem de dupla ovulação nesse segundo experimento.

Esses experimentos evidenciaram que há efeito da diminuição do diâmetro folicular na fertilidade, concordando com outros relatos (VASCONCELOS et al., 2001; PERRY et al., 2005). Os mecanismos responsáveis pela redução nas taxas de prenhez quando um folículo imaturo é induzido a ovular podem estar associados a defeitos de fertilização, desenvolvimento embrionário, mortalidade embrionária precoce, receptividade uterina e/ou combinação desses fatores (DAY, 2005).

O diâmetro do folículo ovulatório influenciou consideravelmente a concepção subseqüente, no entanto, outras variáveis foliculares também foram modificadas como a idade do folículo e a duração do proestro (DAY, 2005).

Mussard et al. (2003b) estudaram o efeito da indução da ovulação de folículos de diferentes diâmetros em receptoras de embrião. Novilhas foram induzidas a ovular folículos de 10 e 13 mm. Receptoras que ovularam folículos de 10 mm apresentaram menor taxa de prenhez [8,3% (1/12)] e menor progesterona no dia 12 pós-ovulação (3,4 ± 0,4 ng/ml) em relação às novilhas que ovularam folículos de 13 mm [66,7% (8/12) e 5,6 ± 0,3 ng/ml]. Esses dados sugerem que a incompetência do oócito, a fertilização comprometida e a mortalidade embrionária precoce (antes do dia 7 do ciclo estral) não devem constituir a causa da redução na fertilidade de fêmeas induzidas a ovular folículos imaturos. É possível que a interrupção das alterações pré-ovulatórias de estradiol quando folículos imaturos são induzidos a ovular possa ser responsável pela falta de suporte ao útero para estabelecer a gestação. Um possível mecanismo para diminuição da taxa prenhez está relacionado à ocorrência de luteólise prematura quando folículos imaturos são induzidos a ovular (BRIDGES et al., 2004). No entanto, Sá Filho (2007) não encontrou efeito da suplementação previamente a ovulação com estradiol exógeno na taxa de luteólise prematura em fêmeas Nelore, mas sugere que pode haver um efeito coadjuvante do estradiol à P_4 na inibição da ocorrência de luteólise prematura. Dados revisados por Day (2005) indicam que diminuir a secreção pré-ovulatória de estradiol pelo folículo antes da ovulação induzida pode alterar a morfologia do endométrio uterino, reduzindo a capacidade do útero em secretar histotrofo uterino, elemento importante no desenvolvimento embrionário inicial antes da placentação (GEISERT et al., 1988).

Ao avaliar os resultados em conjunto, Day (2005) e Day e Bridges (2006) relataram que a taxa de concepção parece estar mais estreitamente relacionada à duração do proestro do folículo ovulatório do que propriamente do diâmetro do mesmo (Tabela 1).

TABELA 1. Resumo dos resultados de 4 experimentos realizados em novilhas *Bos taurus*. A taxa de concepção incluiu apenas animais que tiveram ciclo estral subseqüente ao tratamento de duração normal. Experimentos (Exp) 1: Mussard et al. (2002); Exp 2: Mussard et al. (2003a); Exp 3: Mussard et al. (2003b). Exp 4: Bridges et al. (2004)

Tratamento[1]	Exp	Taxa de Concepção (%) (n)	Duração Proestro (dias)	Diâmetro FD (mm)	Idade FD[2] (dias)	$[P_4d_{12}]$ pós-ovulação (ng/ml)
ESPONTÂNEA	1 IA	100 (24/24)	4,7 ± 0,3	12,0 ± 0,3	6,0	6,2 ± 0,3
GnRH 10	1 IA	75,9 (22/29)	3,3 ± 0,1	10,7 ± 0,1	5,1	5,4 ± 0,2
GnRH 10	2 IA	4,4 (2/45)	1,0 ± 0,1	11,1 ± 0,2	5,4	4,9 ± 0,2
GnRH 13	2 IA	57,4 (31/54)	2,2 ± 0,1	13,6 ± 0,2	6,6	5,5 ± 0,2
GnRH 10	3 TE	8,3 (1/12)	1,0 ± 0,1	11,1 ± 0,2	5,1	3,4 ± 0,4
GnRH 13	3 TE	66,7 (8/12)	2,0 ± 0,1	13,7 ± 0,2	6,1	5,6 ± 0,3
GnRH PEC[3]	4 IA	10 (1/10)	1,25	12,6 ± 0,2	5,25	2,8 ± 0,4
GnRH PEL[3]	4 IA	71 (20/28)	2,25	12,9 ± 0,2	5,25	4,3 ± 0,4

[1] Tratamento: ovulação espontânea ou induzida com GnRH quando o folículo atingia o diâmetro mencionado em cada tratamento (10 ou 13 mm).
[2] Idade do FD: Idade do folículo dominante após o início da nova onda folicular.
[3] PEC: proestro curto; PEL: proestro longo

Bridges et al. (2004) avaliaram a taxa de concepção de folículos com diâmetro constante e variação de tempo de proestro. Para fazer essa avaliação, aspirou-se os folículos para início de nova onda folicular e em seguida, as novilhas foram divididas em dois grupos, os que receberam PGF2α 4,5 (n=40) ou 5,5 dias (n=38) após a aspiração folicular e todas receberam GnRH 6,75 dias após a aspiração sendo inseminados após 12 horas, tendo assim proestro longo (PL - 2,25 dias) e curto (PC -

1,25 dias). O diâmetro folicular foi similar entre os grupos (PC: 12,9 ± 0,2 vs PL: 12,6 ± 0,2 mm). No grupo PC foi maior a incidência de ciclos estrais curtos (74,0% vs. 30,0%). No entanto para os animais com ciclos estrais de duração normal a taxa de concepção [PC: 10,0% (1/10) vs. PL: 70,0%, (20/28)] e a concentração sérica de progesterona no dia 12 do ciclo subseqüente foram maiores (PC: 2,8 ± 0,4 vs. PL: 4,3 ± 0,4 ng/ml). Estes resultados confirmaram que independe do diâmetro folicular, quando a duração do proestro foi reduzida, a taxa de concepção e a concentração sérica de P_4 no ciclo subseqüente diminuíram (DAY, 2005).

Em outro estudo, Bridges et al. (2004) avaliaram quais características seriam responsáveis pelas alterações hormonais que influenciam a fertilidade e vacas foram induzidas a ter proestro curto ou longo. O diâmetro folicular e o pico de LH induzido com GnRH não foi diferente entre os tratamentos. No entanto o grupo em que o proestro foi curto tendeu a apresentar maior porcentagem de animais que manifestaram ciclo curto e apresentou menor concentração de estradiol durante o proestro em relação aos animais que tiveram proestro longo. Ao avaliarem a taxa de concepção de acordo com o estradiol pré-ovulatório independente do tratamento os autores encontraram concepção de 88,9% para animais com estradiol > 10 pg/ml e 14,3% para animais com estradiol < 10 pg/ml.

De acordo com a literatura citada (MUSSARD et al., 2002, 2003a; 2003b; BRIDGES et al., 2004; DAY, 2005; DAY e BRIDGES, 2006) a concepção está mais relacionada à capacidade esteroidogênica do folículo dominante durante o proestro e do CL resultante, influenciados positivamente pela maior duração do proestro, do que do diâmetro ou idade do folículo no momento do pico de LH. Além disso, tendo em vista os resultados do experimento que utilizou a transferência de embriões, sugeriu-se que as alterações produzidas pela ovulação de folículos imaturos (diminuição do estradiol pré-ovulatório e da progesterona na fase lútea média), interferem na habilidade do útero em sustentar o embrião (alterando o ambiente uterino), mais do que na incompetência do oócito ou mesmo falha de fertilização. O ambiente uterino alterado poderia gerar falhas gestacionais diretamente por não proporcionar um ambiente adequado para o embrião, levando a sua morte, ou indiretamente, por não dar o suporte adequado ao crescimento embrionário, que poderia levar a diminuição do tamanho do concepto e conseqüente falha no processo de reconhecimento materno da gestação, concordando com outros autores (VASCONCELOS et al., 2001; PERRY et al., 2007).

O estradiol pré-ovulatório altera a morfologia do endométrio, como o crescimento e desenvolvimento de células epiteliais glandulares e da luz do endométrio, e a relação destas com a secreção de proteínas uterinas (MURRAY, 1992; JOHNSON et al., 1997), e a responsividade uterina a outros sinais endócrinos como a regulação da expressão de receptores de estradiol (relação com duração do CL; LAMMING e MANN, 1995; BRIDGES et al., 2004) e progesterona no útero (relação com secreções endometriais glandulares adequadas e sobrevivência embrionária) (KIMMINS e MACLAREN, 2004; ROBINSON et al., 2001; ING e ZHANG, 2004), e aumento do RNA mensageiro para o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) no útero (ROBINSON et al., 2001) e oviduto (PUSHPAKUMARA et al., 2002), relacionado com o desenvolvimento embrionário e a fertilização (revisado por DAY, 2006).

O IFNτ é o principal sinal liberado pelo embrião para o reconhecimento materno da gestação (GODKIN et al, 1982; FARIN et al., 1990) e a capacidade de produção de IFNτ está diretamente relacionado ao tamanho do embrião (MANN e LAMMING, 1999). Para o desenvolvimento do embrião, o histotrófo tem grande importância, pois é a única fonte de nutrição antes da placentação (GEISERT et al., 1988), que ocorre apenas em torno do dia 27 da gestação (KING et al, 1980). A suplementação com progesterona aumentou o tamanho e desenvolvimento morfológico do concepto, a produção de IFNτ e a secreção de proteínas uterinas (GARRET et al., 1988), sendo portanto, relacionada ao reconhecimento materno da gestação (revisado por DAY e BRIDGES, 2006).

Desta maneira o estradiol programa o útero para o adequado desenvolvimento do concepto e a progesterona coordena e controla a função uterina para manutenção da gestação (DAY, 2005).

A administração de progestina em níveis subluteais para inibir o estro e a ovulação produz um folículo dominante persistente, secretor de estradiol (concentrações plasmáticas elevadas), se desenvolve quando estes tratamentos prolongam o ciclo estral (SIROIS E FORTUNE, 1990). As causas da baixa fertilidade parecem estar relacionadas o desenvolvimento anormal de embriões (AHMAD et al., 1995) provenientes de oócitos destes folículos (MIHM et al., 1994; REVAH e BUTTLER, 1996) e a alterações do ambiente do oviduto (BINELLI et al., 1999) e uterino (MANTOVANI et al., 2005).

Foi observada a retomada prematura da meiose pelos oócitos de folículos persistentes (FP; MIHM et al., 1994), evidenciada pela antecipação da quebra da vesícula germinativa em oócitos provenientes de FP (REVAH e BUTTLER, 1996). Os

embriões provenientes de FP apresentaram atraso em relação a embriões de folículos normais (FN) (FP: 43% 2 a 8 células, 43% 9 a 15 células vs. FN: 86% ≥ 16 células; AHMAD et al., 1995), o que pode comprometer a taxa de concepção, que é baixa para embriões provenientes de folículos persistentes e ao útero

Quanto a causas relacionadas ao útero para explicar a baixa fertilidade de animais que ovulam folículos persistentes, os resultados são controversos. Mantovani et al. (2005) encontraram menores taxas de concepção à TE (38,9 e 37,1% nos grupos com FP vs. 59,1% no grupo controle) e sugeriram que pode ter induzida regressão prematura do corpo lúteo. No entanto, Wehrman et al. (1997) não observaram diferenças na taxa de concepção a TE de animais que ovularam folículos expostos à alta concentração de estradiol pré-ovulatória, sugerindo que as causas da baixa fertilidade advinham do oócito, ou do ambiente uterino e do oviduto, antes do dia 7 (Taxa de concepção: alto E_2 :31,1% vs. baixo E_2: 36,2% e controle: 33,3%).

Portanto, é necessário maior conhecimento sobre os efeitos da concentração de progesterona durante protocolos de IATF em fêmeas zebuínas, assim como a busca por alternativas para solucionar ou amenizar esses efeitos. Vários estudos têm reportado menores índices de prenhez em protocolos de IATF em novilhas cíclicas, vacas solteiras e vacas paridas ciclando. Uma semelhança entre essas categorias é grande quantidade de animais com presença de corpo lúteo durante o protocolo de sincronização. O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito da concentração de progesterona no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR), do diâmetro folicular no momento da IATF e da concentração de progesterona sete dias após a IATF nas taxas de sincronização, concepção e prenhez.

As estratégias utilizadas para modificar a concentração de progesterona nesses estudos foram: 1- Dispositivo intravaginal de progesterona novo ou previamente utilizado por 18 dias em novilhas cíclicas e 2- Antecipação da aplicação da prostaglandina do dia 9 para o dia 7 em vacas solteiras e paridas. Uma estratégia utilizada para permitir um crescimento final do folículo foi a aplicação de eCG no momento da retirada dos dispositivos nos experimentos 1 e 2.

Esta pesquisa resultou em um artigo, redigido de acordo com as normas da Revista Theriogenology.

No capítulo 2 é apresentado o trabalho intitulado “**Efeito da concentração pré e pós-ovulatória de progesterona em protocolos de IATF em fêmeas Nelore**”.

3- Referências Bibliográficas

ALLEN, W. R.; MOOR, R. M. The origin of the equine endometrial cups: Production of the PMSG by fetal trofoblast cells. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 29, p. 313-316, 1972.

ANUALPEC 2007. Anuário da Pecuária Brasileira, 2007, Instituto FNP, São Paulo.

AHMAD, N.; SCHRICK, F. N.; BUTCHER, R. L.; INSKEEP, K. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. **Biology Reproduction,** v. 52, p. 1129 - 1135, 1995.

ASBIA. 2007. ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL. 2007. Disponível em: http://www.asbia.org.br/download/mercado/relatorio2007.pdf> Acesso em 12/04/2008.

BARATTA, M.; WEST, L. A.; TURZILLO, A. M.; NETT, T. M. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 714 – 719, 2001.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T.; CARVALHO, J. B. P. eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nellore heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, 2003. Anais… v. 1, p. 117, 2004a.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O.; RODRIGUES, C. A.; NASSER, L. F.; SILVA, R. C. P.; REIS, E. L.; SÁ FILHO, M. F. Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 18, 2004, Barra Bonita..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 32 (Suplemento 1). p. 228, 2004b.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O. Programas de IA a tiempo fijo em *Bos indicus*. Segunda parte. **Taurus**, v. 13, p. 9 – 21, 2001.

BINELLI, M.; HAMPTON, J.; WILLIAM, C. B.; THATCHER, W. Persistent dominant follicle alters pattern of oviductal secretory proteins from cows at estrous. **Biology Reproduction**, v. 61, p. 127 - 134, 1999.

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

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

BRIDGES, A.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Influence of duration of proestrous on circulating estradiol, the LH surge and luteal function in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 82, (Suplemento 1), p. 102, Abstract 102, 2004.

BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced Suppression of lh release in ovariectomised cows. **Animal Reproduction Science**, v. 45, p. 13 – 28, 1996.

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

BURKE, C. R.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, v. 60, p. 647 – 658, 2002.

BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60 - 61, p. 449 - 457, 2000.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H. BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167 – 175, 2008.

CEPEA-USP/CNA – Centro de Estudos Avançado em Economia Agrícola, Universidade de São Paulo e Confederação Nacional da Agricultura. 2008. Disponível em: http://www.cepea.esalq.usp.br/pib> Acesso em 11/04/2008.

CIPRIANO, R. S. Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo com diferentes concentrações de progesterona. Dissertação de Mestrado apresentada à FMVA, 2007.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; DAVIS, H.; RUTLEDGE, M. D.; MARTINEZ, M. F.; SMALL, J. A.; MAPLETOFT, R. J. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology,** v. 34, p. 109 – 117, 2008.

DAY, M. L.; BRIDGES, A. Impacto das concentrações de hormônios esteróides sobre a fertilidade de bovinos. In **X Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos**, CD-ROOM, 2006.

DAY, M. L. Efeito de estratégias de sincronização da ovulação no desenvolvimento folicular e na concepção. In: **IX Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos**, CD-ROOM, 2005.

DEMÉTRIO DGB, SANTOS RM, DEMETRIO CG, VASCONCELOS JLM. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating Holstein cows. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 5073 - 5082, 2007.

DIAS, C. C. Avaliação dos efeitos da concentração de progesterona nas respostas ao protocolo de sincronização da ovulação em novilhas Nelore cíclicas. Dissertação de Mestrado apresentada a FMVZ-UNESP. 2007.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; STAGG, K.; ROCHE, J. F.; SREENAN, J.M. Shortening the interval to the resumption of ovarian cycles in postpartum beef cows. **Beef Production Series**, n. 25, 19 p., 2001.

FARIN, C. E.; IMAKAWA, K.; HANSEN, T. R.; MCDONNELL, J. J.; MURPHY, C. N.; FARIN, P. W.; ROBERTS, R. M. Expression of trophoblastic interferon genes in sheep and cattle. **Biology Reproduction**, v. 43, p. 210 - 218, 1990.

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

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

FOLMAN, Y.; KAIM, M.; HERZ, Z.; ROSENBERG, M. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2.Effects of progesterone and parity on conception. **Journal of Dairy Science,** v. 73, p. 2817 - 2825, 1990.

FOLMAN, Y.; ROSENBERG, M.; HERZ, Z.; DAVIDSON, M. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. **Journal Reproduction Fertility**, v. 34, p. 267 - 278, 1973.

FONSECA, F. A.; BRITT, J. H.; McDANIEL, B. T.; WILK, J. C.; RAKES, A. H. Reproductive traits of Holstein and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p.1128 - 1147, 1983.

FONSECA, V. O.; ANDRADE, V. J.; CHOW, L. A.; NORTE, A. L.; AZEVEDO, N. A. Efeitos de diferentes métodos de amamentação sobre as eficiências produtiva e reprodutiva de um rebanho bovino de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 39, p. 233 – 240, 1987.

FONSECA, V. O.; NORTE, A. L.; CHOW, L. A.; LIMA, O. P. Efeito da amamentação sobre a eficiência reprodutiva de vacas zebus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 33, p. 165 – 171, 1981.

GARCIA-WINDER, M.; INAKAWA, K.; DAY, M. L.; ZALESKY, D. D.; KITTOK, R. J.; KINDER, J. E. Effect of suckling and ovariectomy on the control of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 31, p. 771 - 778, 1984.

GARRETT, J. E.; GEISERT, R. D.; ZAVY, M. T.; MORGAN, G. L. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. **Journal Reproduction Fertility,** v. 84, p. 437 - 446, 1988.

GEISERT, R. D.; ZAVY, M. T.; BIGGERS, B. G.; GARRETT, J. E.; WETTEMANN, R. P. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. **Animal Reproduction Science,** v. 16, p. 11 - 25, 1988.

GEISERT, R. D.; SHORT, E. C.; ZAVY, M. C. Maternal recognition of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 28, p. 287 – 298, 1992.

GODKIN, J. D.; BAZER, F. W.; MOFFATT, J.; SESSIONS, F.; ROBERTS, R. M. Purification and properties of a major, low molecular weight protein released by the trophoblast of sheep blastocysts at day 13-21. **Journal Reproduction Fertility,** v. 65, p. 141 - 150, 1982.

HENRICKS, D. M.; LAMOND, D. R.; HILL, J. R.; DICKEY, J. F. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 33, p. 450 – 454, 1971.

IBGE 2006. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2008. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/2006/defaulttab_censoagro.shtm> Acesso em 11/04/2008

ING, N.; ZHANG. Y. Cell-specific expression of estrogen-responsive genes in the uteri of cyclic, early pregnant and ovariectomized ewes. **Theriogenology,** v. 62, p. 403 - 414, 2004.

IRELAND, J. J.; ROCHE, J. F. Effect of progesterone on basal LH and FSH secretion in heifers. **Journal Reproduction Fertility**, v. 64, p. 295 - 302, 1982.

JOHNSON, M. L.; REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P. Effects of ovarian steroids on uterine growth, morphology, and cell proliferation in ovariectomized, steroid-treated ewes. **Biology Reproduction**, v. 57, p. 588 - 596, 1997.

KIMMINS, S; LIM, H. C.; MACLAREN, L. A. Immunohistocemical localization of integrin alpha V and beta 3 and osteopontin suggests that they do not interact during embryo implantation in ruminants. **Reproduction Biology Endocrinology,** v. 2, p. 19 - 32, 2004.

KING, G. J.; ATKINSON, B. A.; ROBERTSON, H. A. Development of the bovine placentome from days 20 to 29 of gestation. **Journal Reproduction Fertility**, v. 59, p. 95 - 100, 1980.

LAMMING, G. E.; MANN, G. E. Control of endometrial oxytocin receptors and prostaglandin F2α production in cows by progesterone and oestradiol. **Journal Reproduction Fertility**, v. 103, p. 69 - 73, 1995

LUCY, M. C. ; SAVIO, J. D. ; BADINGA, L. ; DeLaSOTA, R. L. ; THATCHER, W. W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 3615 - 3626, 1992.

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

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; FRAY, M. D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. Animal Reproduction Science, v. 37, p. 121 – 131, 1995.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction Domestic Animals,** v. 34, p. 269 - 274, 1999.

MANN, G. E.; GREEN, M. P.; SINCLAIR, K. D.; DEMMERS, K. J.; FRAY, M. D.; GUTIERREZ, C. G.; GARNSWORTHY, P. C.; WEBB, R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 79, p. 71 – 79, 2003.

MANTOVANI, A. P.; REIS, E. L.; GACEK, F.; BÓ, G. A.; BINELLI, M.; BARUSELLI, P. S. Prolonged use of a progesterone-releasing intravaginal device (CIDR®) for induction of persistent follicles in bovine embryo recipients. **Animal Reproduction Science**, v. 2, n4, p. 272 - 277, 2005.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas Bos taurus x Bos indicus no período pós-parto. In: V SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, Huerta Grande, v. 1, p. 392, 2003.

MARQUES, M. O.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; FIGUEIREDO, T. B.; SÓRIA, G. F.; BARUSELLI, P. S. Efeito do tratamento com PGF2α na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 19, 2005, Angra dos Reis. Anais..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 33 (Suplemento 1). p. 287, 2005.

MARTINS, Jr., A. P.; LOSE, T. C.; MENEGHETTI, M.; VILELA, E. R.; VASCONCELOS, J. L. M. Protocolos de sincronização de ovulação a base de progesterona, estradiol e remoção de bezerro: Avaliação de diferentes doses de eCG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 15. Anais... CD-Room. 2005.

McNEIL, R. E.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; MORRIS, D. G. Associations between milk progesterone on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**, v. 65, p. 1435 – 1441, 2006.

MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C.; MARTINS Jr., A. P.; VILELA, E. R.; VASCONCELOS, J. L. M. Efeito de diferentes estímulos ovulatórios na taxa de sincronização. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 19, 2005, Angra dos Reis. Anais..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 33 (Suplemento 1). p. 256, 2005b.

MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C.; MARTINS JR., A. P.; VILELA, E. R.; VASCONCELOS, J. L. M. Uso de protocolo de IATF associado a diagnostico precoce de gestação e ressincronização como estratégia para maximizar o número de vacas gestantes por IA em estação de monta reduzida. **A Hora Veterinária,** Porto Alegre, v. 147, p. 25 - 27, 2005a.

MENEGHETTI, M.; LOSI, T. C.; VILELA, E. R.; VILELA NETO, J. M.; VASCONCELOS, J. L. M. Adição de eCG ou remoção do bezerro no final de protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 20, 2006, Araxá..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 34 (Suplemento 1). p. 392, 2006.

MIHM, M.; CURRAN, N.; HYTTEL, P.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Resumption of meiosis in cattle oocytes from preovulatory follicles with a short and a long duration of dominance. **Journal Reproduction Fertility,** v. 13, p. 14, 1994 (ABSTRACT).

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. Endocrine Reviews, v. 12, p.1305 – 1319, 1991.

MURRAY, M. K. The effect of estrogen and progesterone on structural changes in the uterine glandular epithelium of the ovariectomized sheep. **Biololgy Reproduction,** v. 47, p. 408 - 417, 1992.

MUSSARD, M. L.; BURKE, C. R.; BEHLKE, E. J.; GASSER, C. L.; ROBINSON, A. R.; KINDER, J. E.; DAY, M. L. Influency of premature induction of LH surge with GnRH on ovulation, luteal function and fertility in cattle. **Biology Reproduction**, v. 66, (Supplement 1), p. 266, (Abstract 415), 2002.

MUSSARD, M. L.; BURKE, C. R.; GASSER, C. L.; BEHLKE, E. J.; COLLIFLOWER, K. A.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Ovulatory response, luteal function and fertilityin cattle induced to ovulate dominance follicles of early or late maturity. **Biology Reproduction**, v. 68: (Supplement 1), p. 332 (Abstract 535), 2003a.

MUSSARD, M. L.; BURKE, C. R.; DAY, M. L. Ovarian follicle maturity at induced ovulation influences fertility in cattle. In: Proceedings of the Animal Conference of the Society for Theriogenology. **Proceedings…** p. 179, 2003b.

NETT, T. M.; CERMAK, D.; BRADEN, T.; MANNS, J.; NISWENDER, G. Pituitary receptors of GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II. Changes during estrous cicle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 4, p. 123 - 132, 1987.

NETT, T. M.; TURZILLO, A. M.; BARATTA, M.; RISPOLI, L. A. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, p. 33 – 42, 2002.

NOGUEIRA, M. F. G.; MELO, D. S.; CARVALHO, L. M.; FUCK, E. J.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo transfer recipients synchronized with PGF2α and eCG? **Theriogenology**, v. 61, p. 1283 – 1290, 2004.

PENTEADO, L.; AYRES, H.; REIS, E. L.; MADUREIRA, E. H..; BARUSELLI, P. S. Efeito do eCG e do desmame temporário na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 18, 2004, Barra Bonita..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 32 (Suplemento 1). p. 223, 2004.

PENTEADO, L.; AYRES, H.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 20, 2006, Araxá..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 34 (Suplemento 1). p. 401, 2006.

PERES, R. F. G.; SIMIONI, V. M. Avaliação de fatores de ambiente sobre o período de serviço em um rebanho da raça Nelore. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 15. Anais... CD-Room. 2005

PERES, R. F. G.; MENEGHETTI, M.; CARDOSO, B. L.; CLARO JUNIOR, I.; PIRES, A. V.; VASCONCELOS, J. L. M. Efeito do momento da aplicação da prostaglandina em protocolo de IATF na taxa de prenhez de vacas nelore paridas. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 21, 2007, Costa do Sauipe. Anais..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 35 (Suplemento). p. 1140, 2007a.

PERES, R. F. G.; CARDOSO, B. L.; PEREZ, G. C.; SÁ FILHO, O. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Fatores que interferem na fertilidade de novilhas Nelore submetidas a protocolos de sincronização de cio. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 21, 2007, Costa do Sauipe. Anais..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 35 (Suplemento). p. 949, 2007b.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MacNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy sucess in beef heifer. **Journal of Animal Science**, v.85, p. 684 - 689, 2007.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, A. J.; PARKS, T. E.; MacNEIL, M. D.; ROBERTS, A. J.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size pregnancy sucess. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 14, p. 5268 - 5273, 2005.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; DO VALLE, E. R.; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with

prostaglandin F2alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667 - 681, 1998.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2α and GnRH. **Theriogenology,** v. 44, p. 915 – 923, 1995.

PUSHPAKUMARA, P. G.; ROBINSON, R. S.; DEMMERS, K. J.; MANN, G. E.; SINCLAIR, K. D.; WEBB, R.; WATHES, D. C. Expression of the insulin-like growth factor (IGF) system in the bovine oviduct at oestrus and during early pregnancy. **Reproduction,** v. 123, p. 859 - 868, 2002.

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

REVAH, I.; BUTLER, R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal Reproduction Fertility**, v. 106, p. 39 - 47, 1996.

ROBINSON, R. S., G. E. MANN, G. E. LAMMING, AND D. C. WATHES. Expression of oxytocin, oestrogen and progesterone receptors in uterine biopsy samples throughout the oestrous cycle and early pregnancy in cows. **Reprod.** v. 122, p. 965-979, 2001.

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. **Biology Reproduction**, v. 41, p. 997 - 1003, 1989.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REIS, E. L.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular e na taxa de concepção de novilhas Nelore tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol. **Acta Scientiae Vaterinarie** v.33 (supl.1), p.265, 2005a.

SÁ FILHO, M. F.; REIS, E. L.; VIEL Jr., J. O.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas Nelore lactantes em anestro tratadas com progestágeno, eCG e CnRH. **Acta Scientiae Vaterinarie,** v.32, p.235, 2004.

SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; AYRES, H.; CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* tratadas com implante auricular de norgestomet ou com dispositivo intravaginal de progesterona. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 19, 2005, Angra dos Reis. Anais..., Acta Scientiae Veterinariae, v. 33 (Suplemento 1). p. 266, 2005b.

SÁ FILHO, O. G.; VASCONCELOS, J. L. M.; SANTOS, R. M.; ROSSINI, L. C. C. Efeito do momento da aplicação de PGF2$_\alpha$ em protocolo de inseminação artificial com tempo fixo na taxa de concepção em novilhas de corte. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v. 27, p. 3, 2003.

SÁ FILHO, O. G. Efeito de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura de corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto. Tese de mestrado apresentada a FMVZ-Unesp, Campus de Botucatu, 2007.

SANCHEZ, T.; WEHRMAN, M. E.; BERGFELD, E. G.; PETERS, K. E.; KOJIMA, F. N.; CUPP, A. S.; MARISCAL, V.; KITTOK, R. J.; RASBY, R. J.; KINDER, J. E. Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. **Biology of Reproduction**, v. 49, p. 1102 – 1107, 1993.

SAVIO, J. D. ; THATCHER, W. W. ; MORRIS, G. R. ; ENTWISTLE, K. ; DROST, M. ; MATTIACCI, M. R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal Reproduction Fertility**, v. 98, p. 77 - 84, 1993.

SHAHAM-ALBALANCY, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.; ROSENBERG, M.; WOLFENSON, D. Delayed effect of progesterone concentration on bovine uterine PGF2α secretion in the subsequent oestrous cycle. **Reproduction,** v. 122, p. 643 - 648, 2001.

SHAHAM-ALBALANCY, A.; NYSKA, A.; KAIM, M.; ROSENBERG, M.; FOLMAN, Y.; WOLFENSON, D. Delayed effect of progesterone on endometrial morphology in dairy cows. **Animal Reproduction Science,** v. 48, p.159 - 174, 1996.

SIROIS. J.; FORTUNE, J. E. Lengthening the bovine estrous cycle with low concentrations of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology**, v. 127, p. 916 - 925, 1990.

SOUZA, A. H. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. Tese de Doutorado apresentada à FMVZ-USP, 2008. 152f.

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

STAGG, K.; DISKIN, M. G.; 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 beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biology Reproduction,** v. 59, p. 777 - 783, 1998.

STARBUCK, G. R.; GUTIERREZ, C. G.; PETERS, A. R.; MANN, G. E. Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronization of oestrus in cows. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 103 – 108, 2006.

STEWART, F.; ALLEN, W. R.; Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotropins. **Journal of Reproduction Fertility**, v. 62, n. 2, p. 527 – 536, 1981.

STOCK, A. E.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology,** v. 132, p. 1108 - 1114, 1993.

TAFT, R.; AHMAD, N.; INSKEEP, E. K. Exogenous pulses of luteinizing hormone cause persistence of the largest bovine ovarian follicle. **Journal Animal Science**, v. 74, p. 2985 - 2991, 1996.

THATCHER, W. W.; HANSEN, P. J. **Systems to alter embryo survival.** In: LARGE DAIRY HERD MANAGEMENT. Champaign: American Dairy Science Association, p. 164 - 175, 1992.

TURZILLO, A. M.; MILLER, M. W.; NETT, T. M. Pulsatile GnRH increases concentrations of GnRH receptor mRNA and numbers of GnRH receptors during luteolysis in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 418 – 423, 1995.

VALARELLI, R. L.; VASCONCELOS, J. L. M. In: Symphosium of Reproduction in Domestic Ruminants VI. 7. **Proceedings...** p. 504, 2006.

VASCONCELOS, J. L. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Effects of synchromate B combined with Ngr. On follicular dynamics and time of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 77 (Suppel. 1), p. 174, 1994 (abstract).

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

VASCONCELOS, J. L. M.; SÁ FILHO, O. G.; PEREZ, G. C.; SILVA, A. T. N. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus x Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, 2008a (*in press*).

VASCONCELOS, J. L. M.; VILELA, E. R.; SÁ FILHO, O. G. Remoção temporária do bezerro em dois momentos do protocolo de sincronização de ovulação GnRH-PGF2α-BE em vacas Nelore pós-parto. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2008b (*in press*).

WEHRMAN, M. E.; FIKE, K. E.; MELVIN, E. J.; KOJIMA, F. N.; KINDER, J. E. Development of a persistent ovarian follicle and associated elevated concentrations of

17ß estradiol preceding ovulation does not alter the pregnancy rate after embryo transfer in cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1413 - 1421, 1997.

WILLIAMS, G. L.; TALVERA, F.; PETERSEN, B. J.; KIRSCH, J. D.; TILTON, J. E. Coincident secretion of FSH and LH in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-levelincreases in systemic progesterone**. Biology of Reproduction**, v. 29, p. 362 - 373, 1983.

WILTBANK, J. N.; ROWDEN, W. W.; INGALLS, J. E.; GREGORY, K. E.; KOCH, R. M. Effects of energy level on reproductive phenomena of mature Hereford cows. **Journal of Animal Science,** v. 21, p. 219 - 225, 1962.

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

CAPÍTULO 2

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO PRÉ E PÓS-OVULATÓRIA DE PROGESTERONA EM PROTOCOLOS DE IATF EM FÊMEAS NELORE

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO PRÉ E PÓS-OVULATÓRIA DE PROGESTERONA EM PROTOCOLO DE IATF EM FÊMEAS NELORE

RESUMO

O objetivo desses experimentos foi avaliar os efeitos da concentração de progesterona pré e pós-ovulação em fêmeas Nelore submetidas ao protocolo: D0-benzoato de estradiol (2,0mg, Estrogin®) + CIDR®; D9-retirada do dispositivo + cipionato de estradiol (0,5mg, ECP®) + dinoprost trometamina (PGF2α, 12,5mg, Lutalyse®); D11-IATF. No Exp.1, 1.153 novilhas Nelore cíclicas foram divididas aleatoriamente para receber CIDR® sem utilização prévia ou utilizados previamente por 18 dias e 0, 200 ou 300UI de eCG (Folligon®) no D9. No Exp.2, 702 vacas Nelore solteiras foram divididas para receber aplicação de PGF2α no D7 ou D9 e 0 ou 300 UI de eCG no D9. Nestes experimentos o diâmetro do maior folículo (ØFD) foi avaliado no D11. Amostras de sangue para dosagem de P_4 foram colhidas no D9 e D18 (7d pós-IATF). No Exp.3, 1.332 vacas paridas foram avaliadas no D7 quanto à presença de CL, sendo divididas para receber PGF2α no D7 ou D9. Amostras de sangue foram colhidas no D9. O diagnóstico de gestação foi realizado no D41. Variáveis contínuas foram avaliadas pelo PROC GLM e binomiais pelo PROC LOGISTIC. Considerou-se efeito significativo quando $P<0,05$ e tendência quando $P<0,1$. No Exp.1, as novilhas tratadas com CIDR® sem utilização prévia apresentaram maior [P_4D9] (3,06±0,09 vs. 2,53±0,09 ng/ml). A [P_4D9] afetou negativamente o ØFD. Novilhas que não receberam eCG apresentaram menor ØFD (0UI: 11,5±0,1^a; 200UI: 11,9±0,1^b; 300UI: 12,0±0,1^{b}mm). O ØFD afetou positivamente a [P_4D18]. Houve efeito de dose de eCG na [P_4D18] (0UI: 2,77±0,11^a; 200UI: 3,18±0,11^b; 300UI: 4,87±0,11^{c}ng/ml) e na taxa de sincronização [TS; 0UI: 83,8%(337/402)^a; 200UI:88,5%(339/383)^{ab}; 300UI: 94,3%(347/368)^b]. A [P_4D9] tendeu a afetar negativamente e o ØFD influenciou positivamente a TS. Houve interação entre eCG e [P_4D9] na taxa de concepção (TC), sendo que eCG minimizou o efeito negativo da alta [P_4D9]. Também foi detectado efeito positivo do ØFD e da [P_4D18] na TC. Novilhas que não receberam eCG apresentaram menor taxa de prenhez [TP; 0UI: 41,3%(166/402)^a; 200UI: 47,0%(180/383)^b; 300UI: 46,7%(172/368)^b]. No Exp.2, o momento da aplicação da PGF2α alterou a [P_4D9] (D7: 3,05±0,21 vs. D9: 4,58±0,21ng/ml) e o ØFD (D7:11,54±0,21 vs. D9:10,84±0,21mm). O tratamento com eCG aumentou o ØFD (0UI: 10,96±0,20 vs. 300UI: 11,47±0,21mm). A [P_4D9] influenciou negativamente o ØFD. A [P_4D18] foi influenciada pelo eCG (0UI: 3,24±0,14

vs. 300UI: 4,55±0,14ng/ml) e positivamente pelo ØFD. A TS foi influenciada positivamente pelo ØFD, pelo momento da PGF2α [D7: 85,4%(299/350) vs. D9: 77,0%(271/352)], e por eCG [0UI: 72,4%(255/352) vs. 300UI: 90,0%(315/350)]. A TC foi influenciada negativamente pela [P_4D9], e positivamente pelo ØFD, [P_4D18], e momento da aplicação da PGF2α [D7: 60,9%(182/299) vs. D9: 47,2%(128/271)]. A TP foi influenciada pelo momento da aplicação da PGF2α [D7: 52,0%(182/350) vs. D9: 36,4%(128/352)] e eCG [0UI: 37,5%(132/352) vs. 300UI: 50,8%(178/350)]. No Exp.3, houve interação entre presença de CL e momento de aplicação da PGF2α na TP [SemCL-PGFD7: 47,3%(285/603)^a; SemCL-PGFD9: 48,4%(195/403)^a; ComCL-PGFD7: 50,3%(86/171)^a; ComCL-PGFD9: 36,1%(56/155)^b]. A [P_4D9] influenciou negativamente a TP. Conclui-se que baixa concentração de progesterona pré- e alta pós-ovulação foram importantes para melhorar os resultados de IATF em fêmeas Nelore cíclicas.

Palavras-chave: progesterona, IATF, Nelore

EFFECT OF PRE AND POST OVULATORY PROGESTERONE CONCENTRATIONS IN NELLORE CATTLE AFTER TAI

ABSTRACT

The aim of this trial was to evaluate the effect of pre- and post-ovulatory progesterone concentration in Nellore cattle treated with the protocol: D0-estradiol benzoate (2.0mg, Estrogin®) + CIDR®; D9–CIDR® withdrawal + of estradiol cypionate (0.5mg, ECP®) + dinoprost trometamine (12.5mg, Lutalyse®); D11-TAI. In Exp.1, 1,153 cycling Nellore heifers were randomly assigned to receive on D0 either a non-previously used or a 18d-previously CIDR® and 0, 200UI or 300UI of eCG (Folligon®) on D9. In Exp.2, 702 non-lactating Nellore cows were assigned to receive PGF2α treatment either on D7 or D9 and 0 or 300 IU of eCG on D9. On these experiments, the diameter of the largest follicle (ØFD) was measured on D11. Blood samples were collected on D9 and D18 (seven days after TAI) to evaluate serum progesterone concentrations. In Exp.3, 1,332 suckled Nellore cows were evaluated on D7 for luteal tissue presence. Cows were assigned to receive PGF2α either on D7 or D9. Blood samples were collected on D9. Pregnancy diagnosis was performed on D41. Continuous variables were evaluated by PROC GLM and binary by PROC LOGISTIC. Significant differences were considered when $P<0.05$ and tendencies when $P<0.1$. In Exp.1, heifers treated with non-previously used CIDR® had greater [P_4D9] (3.06±0.09 vs. 2.53±0.09 ng/ml). The [P_4D9] negatively affected the ØFD. There was effect of eCG dosage on ØFD (0IU: 11.5±0.1^a; 200IU: 11.9±0.1^b; 300IU: 12.0±0.1^{b}mm). The ØFD positively affected the [P_4D18]. The eCG dosage influenced the [P_4D18] (0UI: 2.77±0.11^a; 200UI: 3.18±0.11^b; 300UI: 4.87±0.11^{c}ng/ml). Treatment with eCG affected synchronization rate [SR; 0IU: 83.8% (337/402)^a; 200IU: 88.5% (339/383)^{ab}; 300IU: 94.3% (347/368)^b]. The [P_4D9] tended to negatively affect, and the ØFD positively affected the SR. There was interaction between eCG and [P_4D9] on conception rate (CR), in a manner that eCG minimized the negative effect of high [P_4D9]. Also there was a positive effect of the ØFD and [P_4D18] in CR. Heifers that did not receive eCG had lower pregnancy rate [PR; 0IU: 41.3%(166/402)^a; 200IU: 47.0%(180/383)^b; 300IU: 46.7%(172/368)^b]. In Exp.2, the time of PGF2α treatment altered the [P_4D9] (D7: 3.05±0.21 vs. D9: 4.58±0.21ng/ml) and the ØFD (D7: 11.54±0.21 vs. D9: 10.84±0.21mm). Treatment with eCG affected the ØFD (0IU: 10.96±0.20 vs. 300IU: 11.47±0.21mm). The [P_4D9] negatively affected the ØFD. The [P_4D18] was influenced by eCG (0IU: 3.24±0.14 vs. 300IU: 4.55±0.14ng/ml) and

positively by the ØFD. The SR was influenced by the time of PGF2α treatment [D7: 85.4%(299/350) vs. D9: 77.0%(271/352)], eCG [0IU: 72.4%(255/352) vs. 300IU: 90.0%(315/350)] and positively by the ØFD. The CR was negatively effected by the [P_4D9], and positively effect by the ØFD, [P_4D18], and the time of PGF2α treatment [D7: 60.9%(182/299) vs. D9: 47.2%(128/271)]. The PR was affected by the time of PGF2α treatment [D7: 52.0%(182/350) vs. D9: 36.4%(128/352)] and by eCG [0IU: 37.5%(132/352) vs. 300IU: 50.8%(178/350)]. In Exp.3, there was interaction between the presence of CL presence and the time of PGF2α treatment [WithoutCL-PGFD7: 47.3% (285/603)[a]; WithoutCL-PGFD9:48.4% (195/403)[a]; WithCL-PGFD7:50.3%(86/171)[a]; WithCL-PGFD9:36.1% (56/155)[b]]. Also, the [P_4D9] negatively affected the pregnancy rate. In conclusion, low progesterone concentration pre- and high progesterone concentration post- ovulation were important to improve TAI results in cycling Nellore cattle.

Keywords: progesterone, TAI, Nellore.

1- INTRODUÇÃO

A IATF é uma ferramenta que permite aumentar a taxa de serviço em fêmeas zebuínas, devido à particularidade do cio dessas fêmeas (curtos e com ocorrência predominantemente noturna) [1-2]. Protocolos de IATF em novilhas zebuínas e vacas solteiras têm apresentado baixos resultados [3-6].

Os efeitos da concentração de progesterona durante o protocolo de IATF não estão esclarecidos. Carvalho et al. [6] atribuíram menor taxa de ovulação ao protocolo de IATF devido a maior concentração de progesterona durante o protocolo de sincronização. Henricks et al. [7] avaliaram o efeito da concentração de progesterona pré-ovulação na taxa de prenhez em bovinos de corte em monta natural e relataram melhoria no desenvolvimento embrionário quando há menor concentração de progesterona pré-ovulação. No entanto, em vacas de leite [8-10] observaram maior taxa de concepção em vacas leiteiras que apresentaram maior concentração plasmática de progesterona pré-IA.

A concentração de progesterona pós-IA tem sido bastante estudada, mas os resultados são variáveis [7, 11-15]. A maior proporção dos trabalhos demonstra que existe efeito benéfico de maior concentração de progesterona pós-IA na taxa de prenhez, porém dados com fêmeas Nelore são escassos na literatura.

O objetivo desse experimento foi avaliar o efeito da concentração de progesterona pré- e pós-ovulação em fêmeas Nelore submetidas a protocolos de IATF.

A hipótese desse trabalho é que alta concentração de progesterona ao final do protocolo de sincronização da ovulação prejudica as taxas de sincronização, concepção e prenhez em fêmeas Nelore por limitar o desenvolvimento do folículo ovulatório. No experimento 1, o mecanismo utilizado para alterar a concentração de progesterona foi o dispositivo intravaginal de progesterona (sem prévia utilização ou previamente utilizado por 18 dias), enquanto nos experimentos 2 e 3, utilizou-se o momento da aplicação da prostaglandina para alterar a concentração de progesterona. No experimento 1 e 2, eCG foi utilizada como uma ferramenta para aumentar o diâmetro do folículo dominante.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1- Experimento 1

2.1.1- Local experimental, animais e tratamentos

Foram avaliadas 3102 novilhas Nelore, de 22 a 26 meses de idade, por ultra-sonografia 30 a 40 dias antes do início do experimento, sendo mantidas 1153 novilhas Nelore que apresentavam presença de corpo lúteo por ultra-sonografia (US1), com escore de condição corporal (ECC) de 3,1 ± 0,3 (escala de 1 a 5) [16], pertencentes a duas propriedades: Fazenda Iberê, situada no município de Primavera do Leste-MT (n=593; ECC 2,92 ± 0,27) e Fazenda Santa Rosa, situada no município de Xinguara-PA (n=560; ECC 3,26 ± 0,19). As novilhas foram mantidas a pasto (*Brachiaria brizantha*), com água e sal mineral à vontade, divididas em três lotes de manejo na Fazenda Iberê e quatro lotes de manejo na Fazenda Santa Rosa. O experimento foi realizado entre setembro de 2007 e janeiro de 2008.

Todos os animais foram sincronizados utilizando-se o seguinte protocolo: dia 0: administração de benzoato de estradiol (BE, 2 mg, i.m., Estrogin®, Farmavet, Brasil) e inserção de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P_4 (CIDR®, Pfizer Saúde Animal, Brasil); dia 9: retirada do dispositivo intravaginal de P_4, aplicação de cipionato de estradiol (0,5 mg, i.m., ECP® - Pfizer Saúde Animal, Brasil) e aplicação de prostaglandina (PGF2α, 12,5 mg, i.m., Lutalyse® - Pfizer Saúde Animal, Brasil) . As novilhas foram divididas aleatoriamente para receber dispositivos de P_4 sem utilização prévia (1° uso) ou utilizados previamente por 18 dias (3° uso) e também para receber no dia 9 do protocolo 0, 200 UI ou 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Eqüina (Folligon® - Intervet, Brasil), perfazendo os seguintes grupos: CIDR 1° uso com 0 UI (CIDR1-0; n=191), 200 UI (CIDR1-200; n=188), ou 300 UI de eCG (CIDR1-300; n=187) e CIDR 3° uso com 0 UI (CIDR3-0; n=211), 200 UI (CIDR3-200; n=195) ou 300 UI de eCG (CIDR3-300; n=181). A IATF foi realizada 48 h após a retirada do dispositivo de P_4. Na Fazenda Santa Rosa foi observado a manifestação de cio entre a retirada do dispositivo intravaginal de P_4 e a IATF por inseminadores capacitados com o auxílio de tinta vermelha impregnada a base da cauda (Raidex®, Walmur). Os touros e inseminadores em cada propriedade foram divididos aleatoriamente no momento da IA dentro de cada lote. No momento da IATF foi avaliado por US (US2) o diâmetro do maior folículo através da média do maior diâmetro e do diâmetro perpendicular a ele. As novilhas que não apresentaram nos ovários um folículo com diâmetro > 6,2 mm [17] neste momento e tiveram concentração de P_4 > 1,0 ng/ml sete dias após a IATF foram consideradas ovuladas antecipadamente. O diagnóstico de gestação foi avaliado por US (US3) 30 dias após a IATF. O diagrama esquemático está demonstrado na Figura 1.

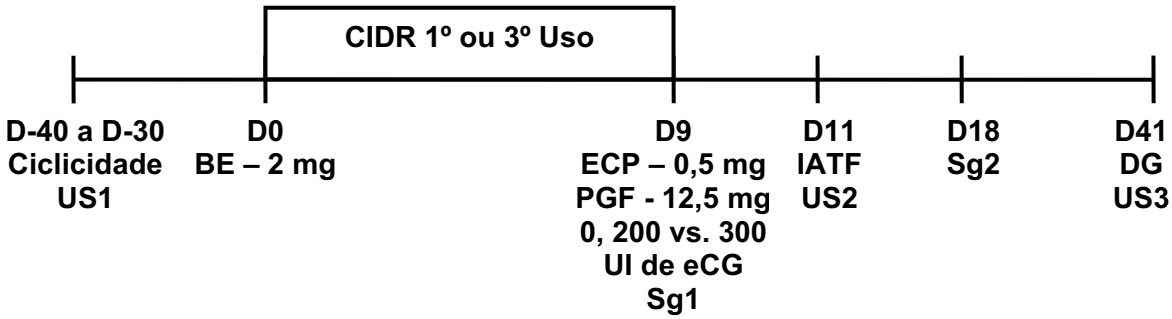


Figura 1. Diagrama esquemático do experimento 1; US1: avaliação da presença de CL; D0: aplicação de 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol) e inserção do dispositivo intravaginal de progesterona novo (1º Uso) ou utilizado previamente por 18 dias (3º Uso) somente em novilhas cíclicas; D9: remoção do dispositivo de progesterona, aplicação de 0,5 mg de ECP (Cipionato de Estradiol), de 12,5 mg de PGF2α (Prostaglandina) e divisão dos animais para receber 0, 200 ou 300 UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Eqüina); Sg 1: coleta de sangue no dia 9 do protocolo; D11: IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e US2: medida do diâmetro do maior folículo; D18: Sg 2 – coleta de sangue 7 dias após a IATF; D41: DG US3 - diagnóstico de gestação por ultra-sonografia 30 dias após a IATF.

2.1.2- Exames Ultra-sonográficos:

Os exames de US foram realizados com aparelho Aloka, modelo SSD-500, com transdutor linear de 7,5 MHz, para avaliar a presença de CL das novilhas (US1), o diâmetro do maior folículo (US2) e diagnóstico de gestação (US3).

2.1.3- Colheita das amostras de sangue para dosagem de progesterona

As amostras de sangue foram colhidas nos dias 9, previamente a retirada do dispositivo intravaginal de P_4, e no dia 18 (sete dias após a IATF) para dosagem de P_4, da veia coccígea em tubos com vácuo sem anticoagulante. Após a colheita, o sangue foi imediatamente colocado em gelo na posição vertical e até completar 24 h, mantido em refrigerador a 4°C. As amostras foram centrifugadas a 3000 X g por 10 minutos à temperatura ambiente, para separação do soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -20°C até a realização das dosagens.

As amostras de P_4 no dia 9 foram utilizadas para avaliar a influência da concentração de P_4 no diâmetro do maior folículo e nas taxas de sincronização e concepção.

As amostras de P_4 no dia 18 foram utilizadas para avaliar a influência da concentração de P_4 na taxa de concepção. Novilhas que apresentaram concentração de P_4 > 1 ng/ml foram consideradas sincronizadas, assim como 18 novilhas que estavam prenhes e apresentavam concentração sérica de P_4 < 1 ng/ml.

2.1.4- Dosagem da progesterona sérica

As dosagens de progesterona foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP – Araçatuba.

As concentrações de progesterona séricas foram determinadas nas amostras de soro com o Kit de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count® - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA).

Alíquotas de 100μl de soro ou de diluições da curva padrão foram incubadas por três horas em temperatura ambiente (15 a 28°C) com 1 mL de P_4 marcada [I-125] em tubos com anticorpo contra P_4 aderido à parede. Após a incubação, foi removido todo o líquido dos tubos, e cada tubo foi contado por um minuto em contador gama.

As amostras foram processadas em 11 ensaios. A sensibilidade dos ensaios foi de 0,1 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio foi de 6,6%, 2,9%, 1,9%, 0,2%, 2,1%, 4,7%, 0,7%, 2,8%, 7,7%, 4,6% e 6,7% para os ensaios de 1 a 11, respectivamente, e o CV inter-ensaio foi 9,74%.

2.1.5- Análise Estatística

As variáveis dependentes contínuas (concentração sérica de progesterona no dia 9 e 18 e diâmetro do maior folículo no momento da IATF) foram analisadas pelo método dos quadrados mínimos, utilizando-se o procedimento GLM do programa SAS. Para cada variável os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Kolmogorov-Smirnov) e quanto à homogeneidade das variâncias (Teste Brow-Forsyphe). O diâmetro do folículo dominante não obedeceu às premissas para a análise de variância e sofreu transformação por seu inverso elevado à segunda potência. As demais variáveis dependentes não sofreram transformação. Os valores ajustados foram re-expressos na escala original. A comparação das médias dos

quadrados mínimos dessas variáveis dentro dos tratamentos foi feita através do teste de Tukey-Kramer.

Para avaliação da variável dependente concentração sérica de progesterona no dia 9 foram incluídos no modelo os efeitos do número de utilizações do dispositivo intravaginal de P_4, fazenda, ECC (covariável) e interações.

A variável diâmetro do maior folículo no momento da IATF foi analisada após transformação por sua inversa elevado a segunda potência e foi incluído no modelo como classe: o efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de P_4, da dose de eCG, fazenda e interações; e como covariáveis: efeito da concentração sérica de P_4 no dia 9, ECC e interações. As novilhas que não apresentaram nos ovários um folículo com diâmetro > 6,2 mm [17] no momento da IATF e concentração de P_4 > 1 ng/ml sete dias após a IATF foram consideradas ovuladas antecipadamente e foram retiradas para avaliação do diâmetro do maior folículo no momento da IATF.

Para avaliação da variável dependente concentração de progesterona no dia 18 foram incluídos no modelo como classe: o efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de P_4, dose de eCG, fazenda e interações; e como covariáveis: concentração de P_4 no dia 9, diâmetro do maior folículo no momento da IATF, ECC e interações.

As variáveis dependentes binomiais (taxa de sincronização, concepção e prenhez) foram analisadas utilizando-se o procedimento LOGISTIC do programa SAS.

Novilhas que não apresentavam nos ovários um folículo com diâmetro > 6,2 mm [17] neste momento e concentração de P_4 > 1 ng/ml sete dias após a IATF foram consideradas ovuladas antecipadamente (9,6% - 98/1023) e foram mantidas no modelo para avaliar as taxas de sincronização e concepção, sendo desconsideradas para avaliação do diâmetro folicular, visto que não houve diferença dos tratamentos na porcentagem de novilhas que ovularam antecipadamente (sem eCG: 6,8% - 23/337 , 200 eCG: 10,9% - 37/339 ; 300 eCG: 10,9% 38/347).

Para a análise da variável taxa de sincronização (novilhas que apresentavam concentração de P_4 > 1,0 ng/ml sete dias após a IATF) foram incluídos no modelo o efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de P_4, dose de eCG, concentração sérica de P_4 no dia 9 (covariável), diâmetro do maior folículo no momento da IATF (covariável), ECC (covariável) e interações.

A taxa de concepção foi definida como a porcentagem de fêmeas prenhes dividido pelo total de fêmeas efetivamente sincronizadas. Para a análise da variável taxa de concepção foram incluídos no modelo o efeito do número de utilizações do

dispositivo intravaginal de P_4, dose de eCG, inseminador, touro, fazenda, concentração sérica de P_4 no dia 9 (covariável), diâmetro do maior folículo no momento da IATF (covariável), ECC (covariável), concentração sérica de P_4 sete dias após a IATF (covariável) e interações.

Para avaliar o efeito da variável cio na taxa de concepção essa característica foi incluída no modelo (dados da Fazenda Santa Rosa, n=560). A fim de verificar quais fatores interferem na manifestação de cio foram inseridos no modelo: o efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de P_4 e da dose de eCG; e como covariáveis: concentração sérica de P_4 no dia 9, diâmetro do maior folículo, ECC e interações.

A taxa de prenhez foi definida como a porcentagem de fêmeas prenhes dividido pelo total de fêmeas tratadas. Para a análise da variável taxa de prenhez foram incluídos no modelo os efeitos de número de utilizações do dispositivo intravaginal de P_4, dose de eCG, inseminador, touro, fazenda, ECC (covariável) e interações.

Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P < 0,05$ e tendências valores de $P < 0,1$.

Em todas as análises quando não foi observado efeito da interação e/ou covariável, estes foram retirados do modelo.

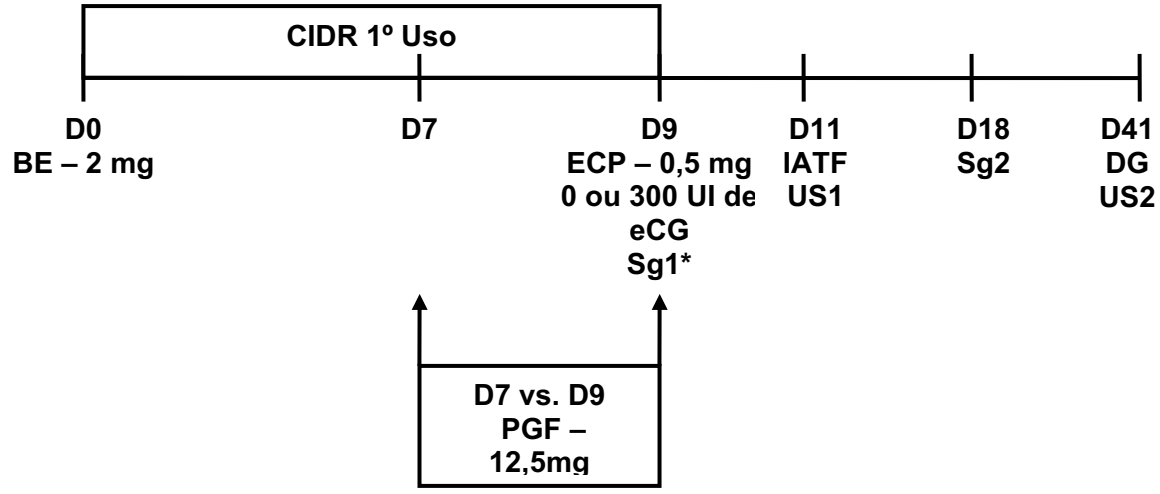
2.2- Experimento 2

2.2.1- Local experimental, animais e tratamentos

Foram utilizadas 702 vacas solteiras, com escore de condição corporal de 2,65 $\pm$ 0,37 (escala de 1 a 5) [16], pertencentes à Fazenda Iberê, situada no município de Primavera do Leste-MT. As vacas foram mantidas a pasto (*Brachiaria brizantha*) com água e sal mineral à vontade, divididas em cinco lotes. O experimento foi realizado entre setembro e dezembro de 2007.

Todos os animais foram sincronizados utilizando-se o seguinte protocolo: dia 0: administração de BE (2 mg, i.m., Estrogin®, Farmavet, Brasil) e inserção de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P_4 (CIDR®, Pfizer Saúde Animal, Brasil); dia 9: retirada do dispositivo intravaginal de P_4 e aplicação de cipionato de estradiol (0,5 mg, i.m., ECP® - Pfizer Saúde Animal, Brasil). As vacas foram divididas aleatoriamente para a aplicação de PGF2α (12,5 mg, i.m., Lutalyse® - Pfizer Saúde Animal, Brasil) no dia 7 ou 9 do protocolo e também para receber no dia 9, 0 ou 300 UI de Gonadotrofina Coriônica Eqüina (Folligon® - Intervet, Brasil). Os animais foram divididos nos

seguintes grupos: PGF2α no dia 9 com 0 UI(PG9-0; n=174) ou 300 UI de eCG (PG9-300; n=178) e PGF2α 7 com 0 UI (PG7-0; n=178) ou 300 UI de eCG (PG7-300; n=172). A IATF foi realizada 48 h após a retirada do dispositivo de P_4. Os touros e inseminadores foram divididos aleatoriamente no momento da IA em cada lote. No momento da IATF foi avaliado por US (US 1) o diâmetro do maior folículo através da média do maior diâmetro e do diâmetro perpendicular a ele. O diagnóstico de gestação foi avaliado por ultra-sonografia (US 2) 30 dias após a IATF. O diagrama esquemático do Experimento 2 está ilustrado na Figura 2.



* Coleta de sangue de 398 animais

Figura 2. Diagrama esquemático do experimento 2; D0: aplicação de 2 mg de BE (Benzoato de Estradiol) e inserção do dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de progesterona; D7: aplicação de 12,5 mg de PGF (prostaglandina) em metade dos animais; D9: remoção do dispositivo de progesterona, aplicação de 0,5 mg de ECP (Cipionato de estradiol), de 12,5 mg de PGF2α na outra metade dos animais e divisão dos animais para receber 0 ou 300 UI de eCG (Gonadotrofina Coriônica Eqüina); Sg 1: coleta de sangue no dia 9 do protocolo em 398 animais; D11: IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e US2: medida do diâmetro do maior folículo em 398 animais; D18: Sg 2 – coleta de sangue 7 dias após a IATF em 702 animais; D41: DG US3 - diagnóstico de gestação por ultra-sonografia 30 dias após a IATF.

2.2.2- Exames Ultra-sonográficos

Os exames de US foram realizados com aparelho Mindray, modelo DP3300 VET, com transdutor linear multifreqüencial na opção 7,5MHz para avaliar o diâmetro do maior folículo (US1) e diagnóstico de gestação (US2).

2.2.3- Colheita das amostras de sangue para dosagem de progesterona

As amostras de sangue foram colhidas nos dias 9 em uma amostragem de animais (n=398), antes da retirada do dispositivo intravaginal de P_4, e no dia 18 (sete dias após a IATF) em todas (n=702) as vacas da veia coccígea em tubos com vácuo sem anticoagulante. Após a colheita, o sangue foi imediatamente colocado em gelo na posição vertical e até completar 24 h, mantido em refrigerador a 4°C. As amostras foram centrifugadas a 3000 X g por 10 minutos à temperatura ambiente, para separação do soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -20°C até a realização das dosagens.

As amostras de P_4 no dia 9 foram utilizadas para avaliar a influência da concentração de P_4 no diâmetro do maior folículo e nas taxas de sincronização e concepção.

As amostras de P_4 no dia 18 foram utilizadas para avaliar a influência da concentração de P_4 na taxa de concepção. Vacas com $P_4 > 1$ ng/ml no dia 18 foram consideradas sincronizadas, assim como 3 vacas que estavam prenhes e apresentavam concentração sérica de $P_4 < 1$ ng/ml.

2.2.4- Dosagem da progesterona sérica

As dosagens de progesterona foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP – Araçatuba.

As concentrações de progesterona séricas foram determinadas nas amostras de soro com o Kit de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count® - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA).

Alíquotas de 100μl de soro ou de diluições da curva padrão foram incubadas por três horas em temperatura ambiente (15 a 28°C) com 1 mL de P_4 marcada [I-125] em tubos com anticorpo contra P_4 aderido à parede. Após a incubação, foi removido todo o líquido dos tubos, e cada tubo foi contado por um minuto em contador gama.

As amostras foram processadas em 5 ensaios. A sensibilidade dos ensaios foi de 0,1 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intraensaio foi 1,9%, 5,3%, 1,3%, 1,3% e 2,9% para os ensaios de 1 a 5 respectivamente, e o CV interensaio foi 2,5%.

2.2.5- Análise Estatística

As variáveis dependentes contínuas (concentração sérica de progesterona no dia 9 e 18 e diâmetro do maior folículo no momento da IATF) foram analisadas pelo método dos quadrados mínimos, utilizando-se o procedimento GLM do programa SAS. Para cada variável os dados foram testados quanto à normalidade dos resíduos (teste de Kolmogorov-Smirnov) e quanto à homogeneidade das variâncias (Teste Brow-Forsyphe). A concentração de P_4 no dia 9 do protocolo não obedeceu às premissas para a análise de variância e sofreu transformação pela sua inversa. As demais variáveis dependentes não sofreram transformação. Os valores ajustados foram re-expressos na escala original. A comparação das médias dos quadrados mínimos dessas variáveis dentro dos tratamentos foi feita através do teste de Tukey-Kramer.

Com o intuito de avaliar o efeito dos tratamentos na concentração de P_4 no dia 9 e no diâmetro do maior folículo no momento da IATF foram utilizados dados de 398 animais pertencentes ao subgrupo avaliado (lotes 3, 4 e 5). As demais variáveis foram analisadas com dados de todos os animais. Portanto, foram realizadas duas análises para as variáveis taxa de sincronização e concepção: 1 – efeito dos tratamentos nas variáveis binomiais (n=702); 2 – efeito dos tratamentos e covariáveis nas taxas de concepção e sincronização (n=398).

Para avaliação da variável dependente concentração de progesterona no dia 9 foram utilizados dados de 398 animais e foi incluído no modelo o efeito do dia da aplicação da PGF2α, ECC (covariável) e interações.

Para a análise da variável dependente diâmetro do maior folículo no momento da IATF foram utilizados dados de 398 animais e incluiu-se no modelo como classe: dia da aplicação da PGF2α e dose de eCG; e como covariáveis: efeito da concentração sérica de P_4 no dia 9, ECC e interações.

Para avaliação da variável dependente concentração de progesterona no dia 18 foi incluído no modelo como classe: o efeito de dia da aplicação da PGF2α e dose de eCG; e como covariáveis: concentração de P_4 no dia 9, diâmetro do maior folículo no momento da IATF, ECC e interações.

As variáveis dependentes binomiais (taxa de sincronização, concepção e prenhez) foram analisadas utilizando-se o procedimento LOGISTIC do programa SAS.

Para a análise da variável taxa de sincronização (vacas que apresentaram concentração de P_4 > 1,0 ng/ml sete dias após a IATF) foram incluídos no modelo o efeito de dia da aplicação da PGF2α, dose de eCG, concentração sérica de P_4 no dia 9 (covariável), diâmetro do folículo no momento da IATF (covariável), ECC (covariável) e interações.

Para a análise da variável taxa de concepção foram incluídos no modelo o efeito do dia da aplicação da PGF2α, dose de eCG, inseminador, touro, concentração sérica de P_4 no dia 9 (covariável), diâmetro do maior folículo no momento da IATF (covariável), ECC (covariável), concentração sérica de P_4 sete dias após a IATF (covariável) e interações.

Para a análise da variável taxa de prenhez foram incluídos no modelo o efeito de dia da aplicação da PGF2α, dose de eCG, inseminador, touro, ECC (covariável) e interações.

Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P < 0,05$ e tendências valores de $P < 0,1$.

Em todas as análises quando não foi observado efeito da interação e/ou covariável, estes foram retirados do modelo.

2.3- Experimento 3

2.3.1- Local experimental, animais e tratamentos

Foram utilizadas 1.332 vacas paridas com escore de condição corporal de 2,88 ± 0,54 (escala de 1 a 5) [16] e pertencentes a três propriedades dos estados de Goiás, Mato Grosso e Paraná. As vacas foram mantidas a pasto (*Brachiaria brizantha*) com água e sal mineral à vontade. O experimento foi realizado entre setembro de 2006 - fevereiro de 2007 e dezembro de 2007 a janeiro de 2008.

Todos os animais foram sincronizados utilizando-se o seguinte protocolo: dia 0: administração de BE (2 mg, i.m., Estrogin®, Farmavet, Brasil) e inserção de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P_4 (CIDR®, Pfizer Saúde Animal, Brasil); dia 9: retirada do dispositivo intravaginal de P_4, aplicação de cipionato de estradiol (0,5 mg, i.m., ECP® - Pfizer Saúde Animal, Brasil) e remoção dos bezerros por 48 horas. No dia 7 as vacas foram avaliadas por US para detectar a presença de corpo lúteo. As fêmeas foram blocadas em dois grupos: presença ou ausência de CL e dentro de cada

grupo foram divididas aleatoriamente para a aplicação de PGF2α (12,5 mg, i.m., Lutalyse® - Pfizer Saúde Animal, Brasil) no dia 7 ou 9. Os grupos ficaram assim constituídos: sem CL com PGF2α 7 (SCL7; n=603) ou PGF2α 9 (SCL9; n=403) e com CL e PGF2α 7 (CCL7; n=171) ou PGF2α 9 (CCL9;n=155). A IATF foi realizada 48 h após a retirada do dispositivo de P_4 e após o término da inseminação os bezerros retornaram à suas mães. Os touros e inseminadores foram divididos aleatoriamente no momento da IA dentro de cada lote. O diagnóstico de gestação foi avaliado por ultra-sonografia (US 2) 30 dias após a IATF. O diagrama esquemático do Experimento 3 está representado na Figura 3.

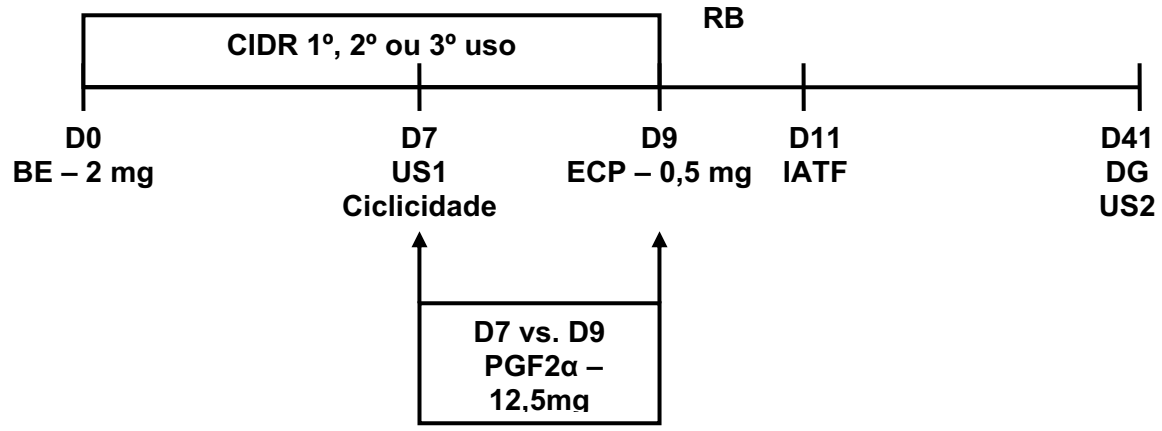


Figura 3. Diagrama esquemático do experimento 3; D0: aplicação de 2 mg de BE (Benzoato de estradiol) e inserção do dispositivo intravaginal de progesterona sem prévio uso ou previamente utilizado por 9 ou 18 dias; D7: US1 – avaliação da presença de CL e aplicação de 12,5 mg de PGF2α (prostaglandina) em metade dos animais; D9: remoção do dispositivo de progesterona, aplicação de 0,5 mg de ECP (cipionato de estradiol), de 12,5 mg de PGF na outra metade dos animais e remoção dos bezerros de suas mães por 48 horas; IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) e retorno dos bezerros com suas mães.D41: DG US2 - diagnóstico de gestação por ultra-sonografia 30 dias após a IATF.

2.3.2- Exames Ultra-sonográficos

Os exames de US foram realizados com aparelho Aloka, modelo SSD-500, com transdutor linear de 7,5 MHz para avaliar a presença de CL no dia 7 (US1) e diagnóstico de gestação 30 dias após a IATF (US2).

2.3.3- Colheita das amostras de sangue para dosagem de progesterona

As amostras de sangue foram colhidas no dias 9 em uma amostragem de animais com presença de CL (n=76), antes da retirada do dispositivo intravaginal de P_4, da veia coccígea em tubos com vácuo sem anticoagulante. Após a colheita, o sangue foi imediatamente colocado em gelo na posição vertical e até completar 24 h, mantido em refrigerador a 4°C. As amostras foram centrifugadas a 3000 X g por 10 minutos à temperatura ambiente, para separação do soro. As amostras de soro foram armazenadas em freezer a -20°C até a realização das dosagens.

As amostras de P_4 no dia 9 foram utilizadas para avaliar a influência da concentração de P_4 na taxa de prenhez.

2.3.4- Dosagem da progesterona sérica

As dosagens de progesterona foram realizadas no Laboratório de Endocrinologia da Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP – Araçatuba.

As concentrações de progesterona séricas foram determinadas nas amostras de soro com o Kit de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count® - Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, EUA).

Alíquotas de 100μl de soro ou de diluições da curva padrão foram incubadas por três horas em temperatura ambiente (15 a 28°C) com 1 mL de P_4 marcada [I-125] em tubos com anticorpo contra P_4 aderido à parede. Após a incubação, foi removido todo o líquido dos tubos, e cada tubo foi contado por um minuto em contador gama.

As amostras foram processadas em 1 ensaio. A sensibilidade do ensaio foi de 0,1 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intraensaio foi 1,3%.

2.3.5- Análise Estatística

Para a análise da variável taxa de prenhez utilizou-se o procedimento LOGISTIC do programa SAS e foram incluídos no modelo o efeito de dia da aplicação da PGF, presença ou ausência de CL no dia 7 (US1), número de utilizações prévias do dispositivo intravaginal de P_4, fazenda, inseminador, touro, ano, ECC (covariável) e interações. A comparação das médias ajustadas para efeito de classes foi realizada pelo método de Bonferroni.

Para avaliação da variável dependente concentração de progesterona no dia 9 foram utilizados dados de 76 animais e incluiu-se no modelo o efeito do dia da aplicação da PGF2α, do ECC (covariável) e interações. A comparação das médias dos quadrados mínimos desta variável dentro dos tratamentos foi feita através do teste de Tukey-Kramer.

Foram considerados estatisticamente significantes valores de $P<0,05$ e tendências valores de $P<0,1$.

3- Resultados

3.1- Experimento 1

Concentração de Progesterona no dia 9

A concentração de P_4 no dia 9 foi influenciada ($P<0,05$) pelo número de utilizações prévias dispositivo intravaginal de P_4. (Tabela 1 e Figura 4 e 5)

Não houve efeito do ECC na concentração de P_4 no dia 9 ($P>0,1$).

Tabela 1. Valores descritivos da concentração sérica de progesterona no dia 9 de 1.153 novilhas Nelore cíclicas que receberam CIDR de 1º ou 3º uso, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Parâmetros	CIDR		Valor de P
	1º Uso	3º Uso	
Média (ng/ml)	3,06±0,09	2,53±0,09	<0,01
Amplitude (ng/ml)	0,31 – 14,15	0,14 – 21,27	-
Quartil Inferior*	1,49	1,09	-
Mediana	2,68	1,66	-
Quartil Superior**	4,02	3,19	-

* Quartil Inferior: Valor aos 25% da amostra ordenada em ordem crescente.
** Quartil Superior: Valor aos 75% da amostra ordenada em ordem crescente.

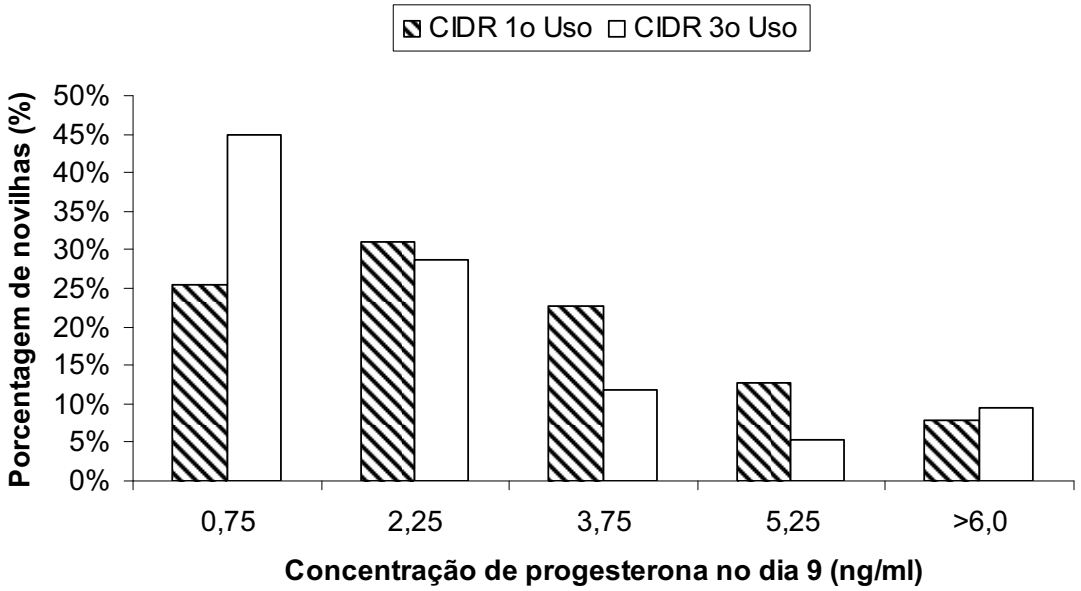


Figura 4. Distribuição de 1.153 novilhas Nelore cíclicas de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam CIDR de 1º ou 3º uso, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

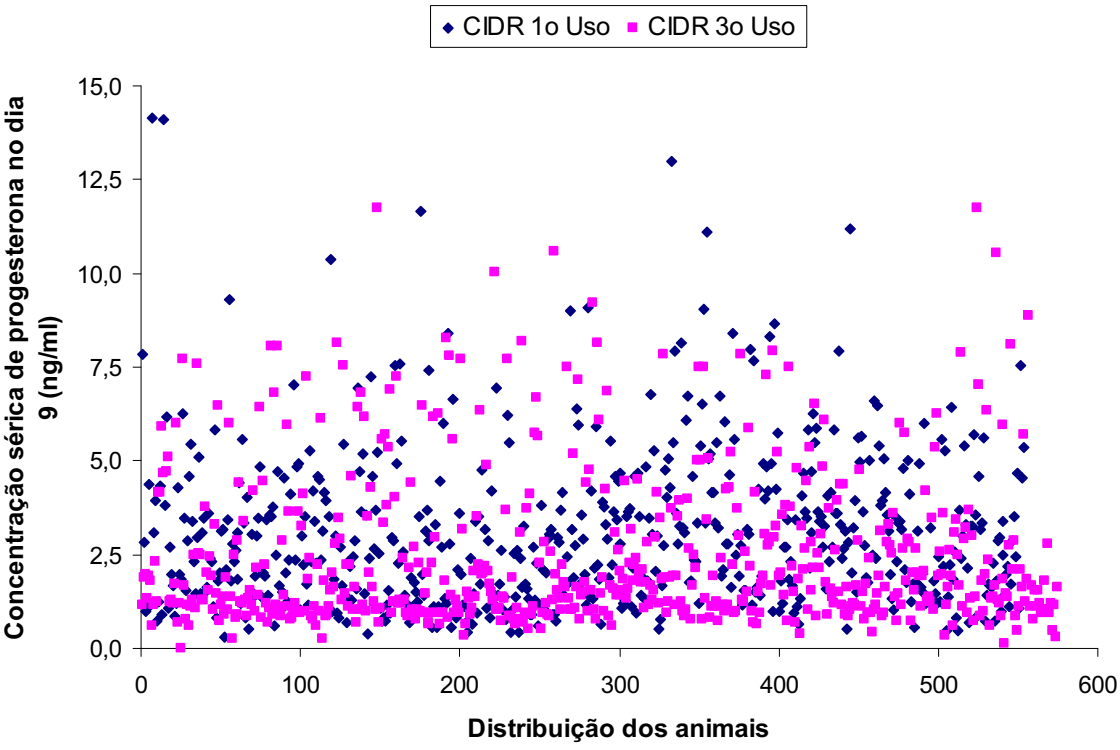


Figura 5. Distribuição de 1.153 novilhas Nelore cíclicas de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam CIDR de 1º ou 3º uso, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Diâmetro do maior folículo no momento da IATF

A concentração de P_4 no dia 9 influenciou (P<0,05) de forma quadrática o diâmetro do folículo dominante (Figura 6). A dose de eCG também influenciou (P<0,05) o diâmetro do maior folículo. Novilhas que não receberam eCG apresentaram menor (11,5 ± 0,1 mm) folículo em relação às novilhas que receberam 200 (11,9 ± 0,1 mm) ou 300 UI (12,0 ± 0,1 mm) de eCG . Não houve efeito do número de utilizações prévias do CIDR e do ECC no diâmetro folicular (P>0,1). Porém, ao retirar a concentração de P_4 no dia 9 do modelo, o número de utilizações prévias do CIDR passa a influenciar o diâmetro do maior folículo, demonstrando que CIDR (1º uso: 11,61± 0,1 vs. 3º uso: 12,05 ± 0,1 mm) influencia o diâmetro folicular através da alteração da concentração de P_4.

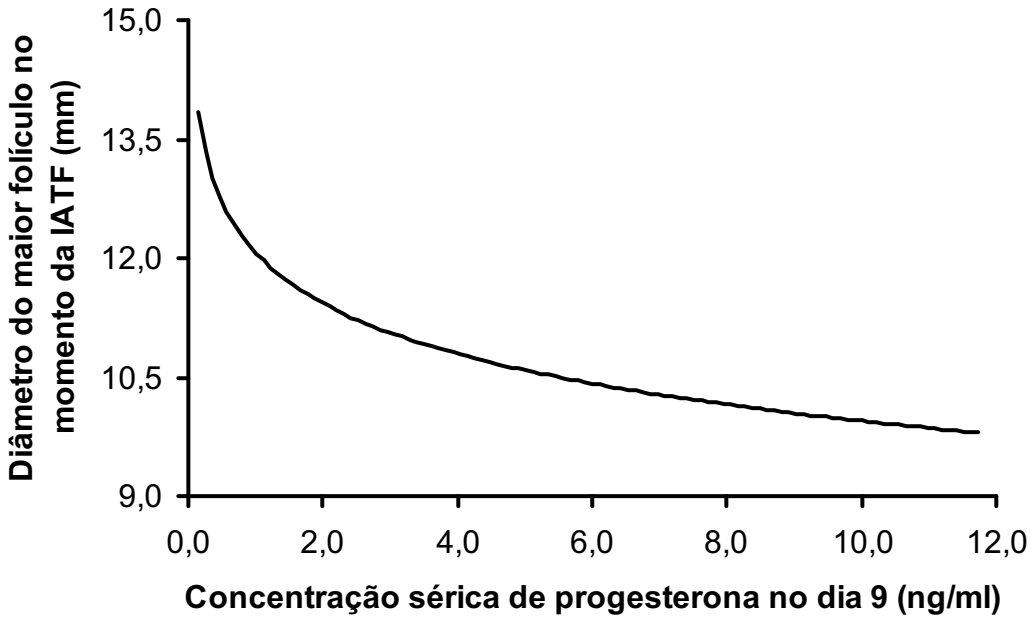


Figura 6. Variação no diâmetro do maior folículo no momento da IATF de acordo com a concentração de progesterona no dia 9 do protocolo de 1.153 novilhas Nelore cíclicas submetidas à IATF, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Concentração de Progesterona no dia 18

A dose de eCG influenciou (P<0,05) a concentração de P_4 no dia 18. Novilhas que receberam 0, 200 ou 300 UI de eCG apresentaram, respectivamente, 2,77 ± 0,11, 3,81± 0,11 e 4,87 ± 0,11 ng/ml de P_4 sérica. O diâmetro do maior folículo influenciou (P<0,05) de forma quadrática a concentração de P_4 no dia 18 (Figura 7). Não houve efeito do número de utilizações prévias do CIDR, da concentração de P_4 no dia 9 e do ECC na concentração de P_4 no dia 18 (P>0,1).

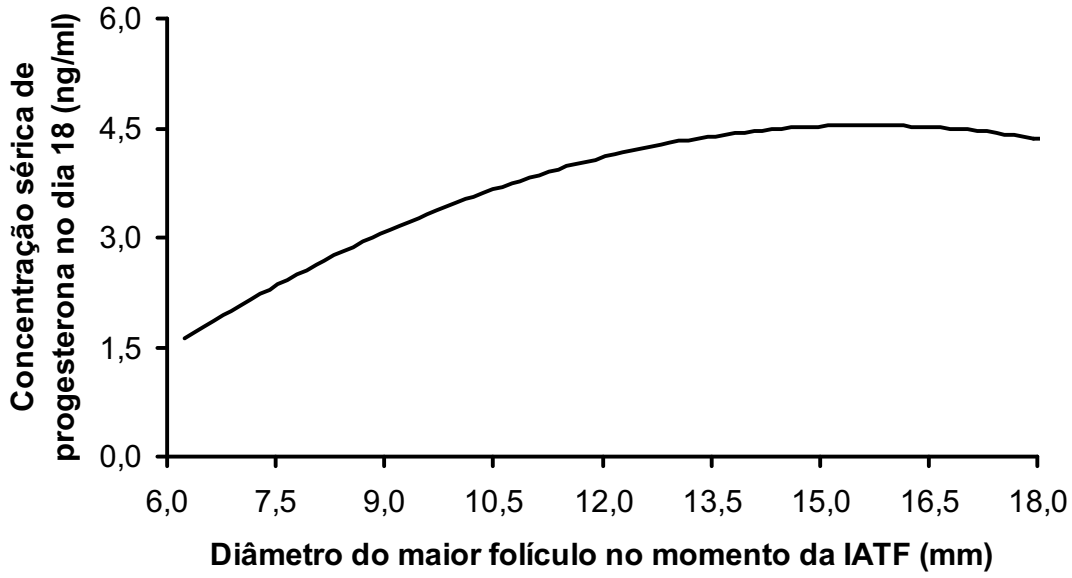


Figura 7. Relação entre o diâmetro do maior folículo no momento da IATF e a concentração de progesterona no dia 18 (sete dias após a IATF) de 1.153 novilhas Nelore cíclicas inseminadas em tempo fixo, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Taxa de sincronização

A concentração de P_4 no dia 9 tendeu ($P<0,1$) a influenciar a probabilidade de sincronização (Figura 8). O diâmetro do maior folículo influenciou ($P<0,05$) a probabilidade de sincronização (Figura 9).

Novilhas que não receberam eCG apresentaram menor ($P<0,05$) taxa de sincronização (83,8%; 337/402) que novilhas que receberam 300 UI de eCG (94,3%; 347/368) e novilhas que receberam 200 UI (88,5%; 339/383) não diferiram dos demais (Tabela 2). O número de utilizações prévias do dispositivo intravaginal de P_4, fazenda e ECC não influenciaram a taxa de sincronização ($P>0,1$).

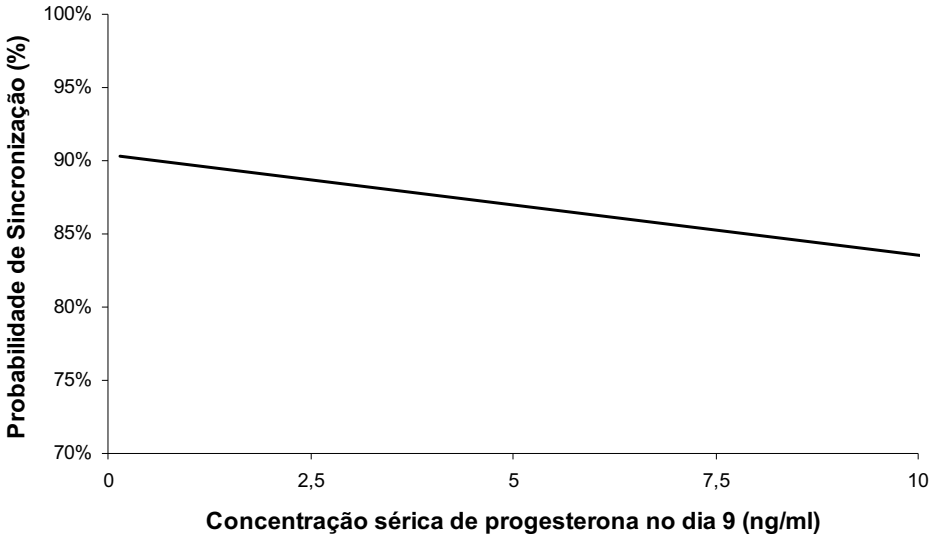


Figura 8. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de sincronização (P_4 > 1,0 ng/ml sete dias após a IATF) de novilhas Nelore cíclicas, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

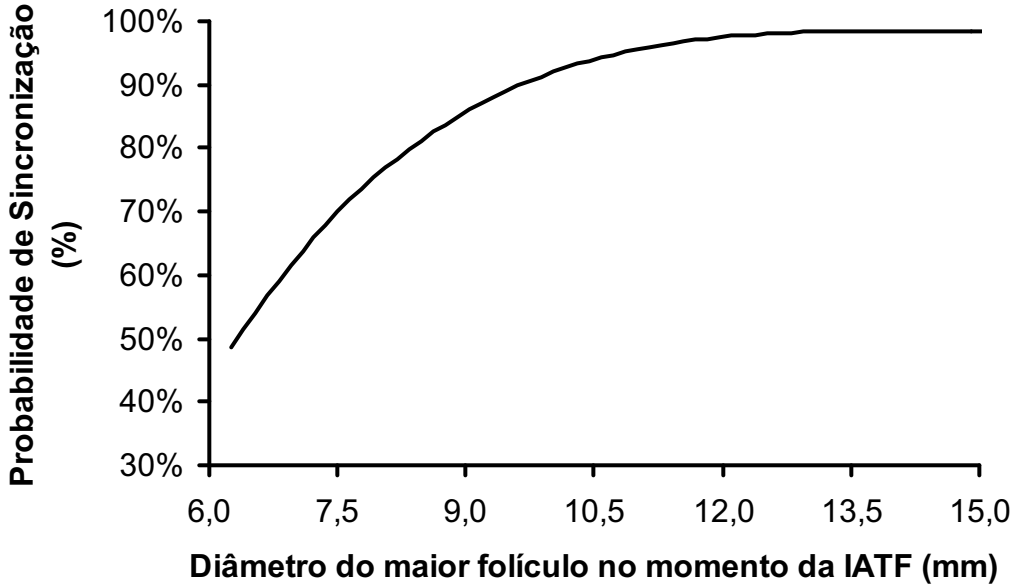


Figura 9. Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de sincronização (P_4 > 1,0 ng/ml sete dias após a IATF) de 1.153 novilhas Nelore cíclicas, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Taxa de concepção

A concentração de P_4 no dia 9 alterou (P<0,05) a probabilidade de concepção (Figura 10). Novilhas que receberam 200 UI de eCG (53,1%) apresentaram maior

(P<0,05) concepção em relação às novilhas que não receberam eCG (49,3%) ou que receberam 300 UI de eCG (49,6%).

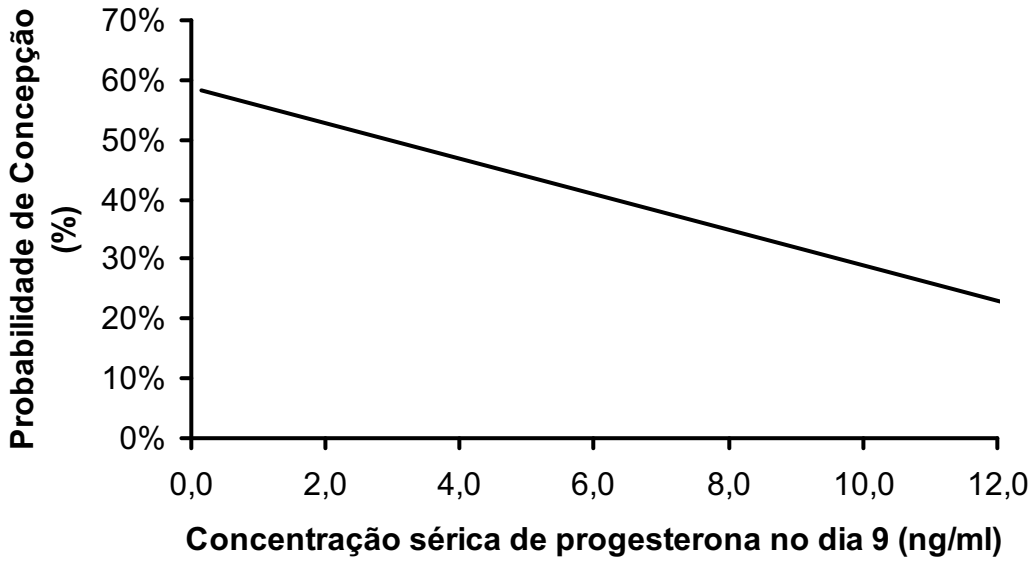


Figura 10. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de concepção de 1.153 novilhas Nelore cíclicas, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Houve interação entre a concentração de progesterona no dia 9 e dose de eCG (P<0,05) na probabilidade de concepção (Figura 11). O diâmetro do maior folículo alterou (P<0,05) de forma quadrática a probabilidade de concepção (Figura 12). A concentração de progesterona no dia 18 tendeu (P>0,1) a influenciar a probabilidade de concepção (Figura 13).

A Tabela 2 ilustra o efeito dos tratamentos na taxa de concepção. Não houve efeito do número de utilizações prévias do dispositivo intravaginal de P_4, do ECC, fazenda, lote, touro e inseminador na taxa de concepção.

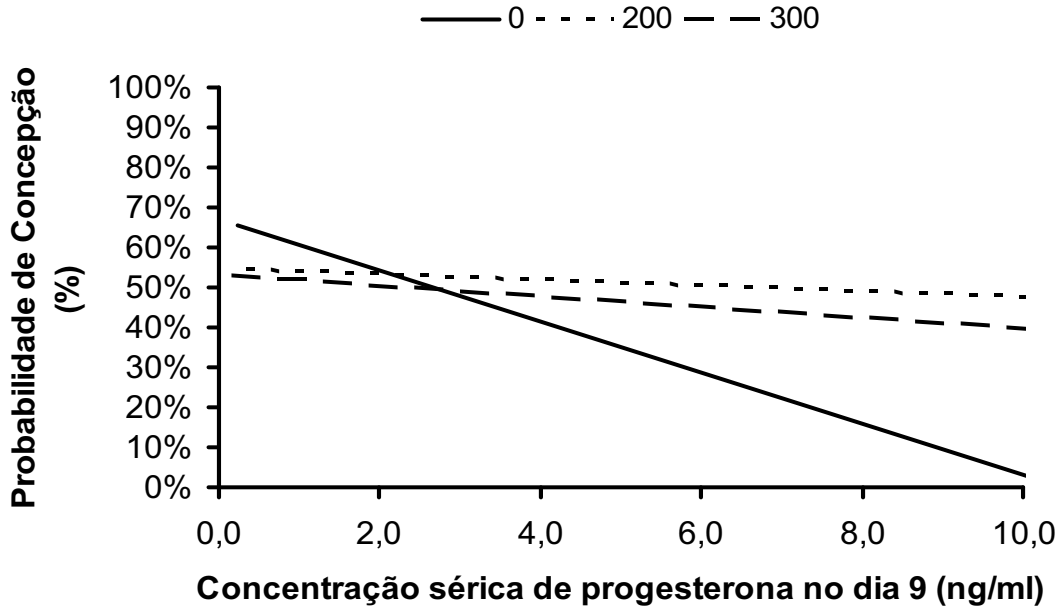


Figura 11. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de concepção de novilhas Nelore cíclicas que receberam 0, 200 ou 300 UI de eCG, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

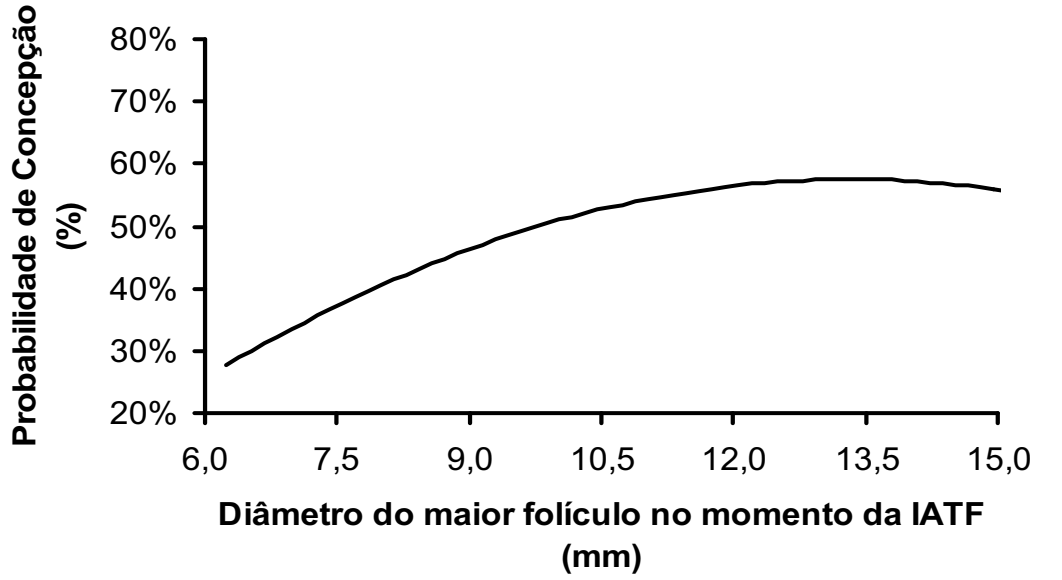


Figura 12. Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de concepção de 1.153 novilhas Nelore cíclicas, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

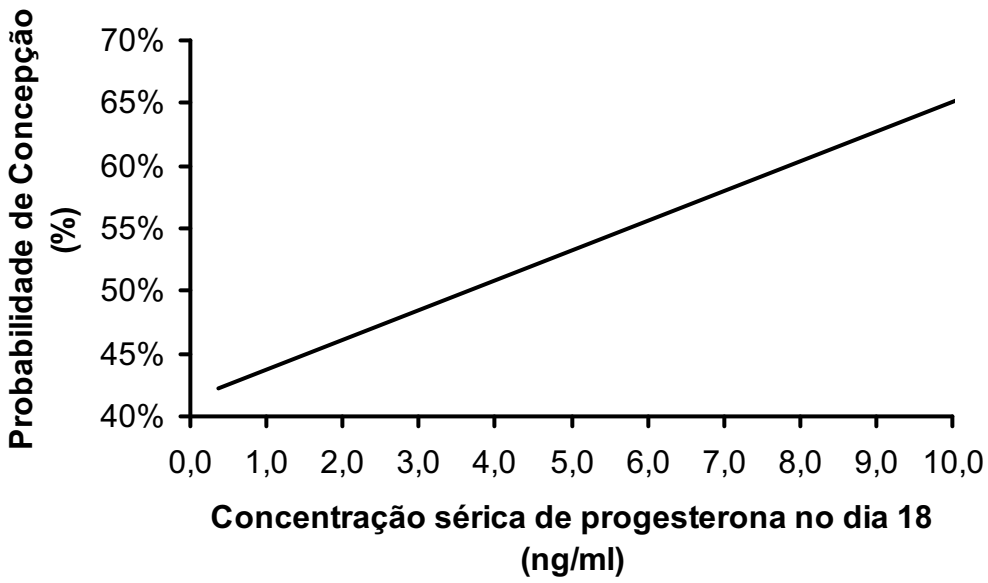


Figura 13. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 18 (sete dias após a IATF) na probabilidade de concepção de novilhas Nelore cíclicas, Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Taxa de prenhez

Houve efeito da dose de eCG na taxa de prenhez. Novilhas que receberam 0 UI (41,3%; 166/402) apresentaram taxa de prenhez menor (P<0,05) que novilhas que receberam 200 UI (47,0%; 180/383) e 300 UI (46,7%; 172/368) de eCG (Tabela 2).

Não houve efeito do número de prévias utilizações do dispositivo intravaginal de P_4, escore de condição corporal, fazenda, lote, touro e inseminador na taxa de prenhez (P>0,1).

Tabela 2. Taxa de sincronização, concepção e prenhez de 1.153 novilhas Nelore cíclicas que receberam dispositivo intravaginal de progesterona novo ou previamente utilizado por 18 dias, com aplicação de 0, 200 ou 300 UI de eCG (Fatorial 2x3), Primavera do Leste-MT e Xinguara-PA, 2008.

Efeitos Principais		N	Taxa de sincronização (%)	Taxa de concepção (%)	Taxa de prenhez (%)
CIDR 1º Uso		566	89,6 (507/566)	50,9 (258/507)	45,6 (258/566)
CIDR 3º Uso		587	87,9 (516/587)	50,4 (260/516)	44,3 (260/587)
	0 UI eCG	402	83,8[a] (337/402)	49,3 [a] (166/337)	41,3 [a] (166/402)
	200 UI eCG	383	88,5[ab] (339/383)	53,1 [b] (180/339)	47,0 [b] (180/383)
	300 UI eCG	368	94,3[b] (347/368)	49,6 [a] (172/347)	46,7 [b] (172/368)
Tratamento		N	Taxa de sincronização (%)	Taxa de concepção (%)	Taxa de prenhez (%)
CIDR 1º Uso	0 UI eCG	191	84,3 (161/191)	49,1 (79/161)	41,4 (79/191)
CIDR 1º Uso	200 UI eCG	188	89,9 (169/188)	51,5 (87/169)	46,3 (87/188)
CIDR 1º Uso	300 UI eCG	187	94,6 (177/187)	52,0 (92/177)	49,2 (92/187)
CIDR 3º Uso	0 UI eCG	211	83,4 (176/211)	49,4 (87/176)	41,2 (87/211)
CIDR 3º Uso	200 UI eCG	195	87,2 (170/195)	54,7 (93/170)	47,7 (93/195)
CIDR 3º Uso	300 UI eCG	181	93,9 (170/185)	47,1 (80/170)	44,2 (80/181)

a, b Letras distintas na mesma coluna diferem estatisticamente; P<0,05

Manifestação de cio

A concentração de progesterona no dia 9 (Figura 14) e o diâmetro do maior folículo no momento da IATF (Figura 15) influenciaram a probabilidade de manifestação de cio (P<0,05). Não houve efeito do número de prévias utilizações do dispositivo intravaginal de P_4 e da dose de eCG na porcentagem de novilhas em cio.

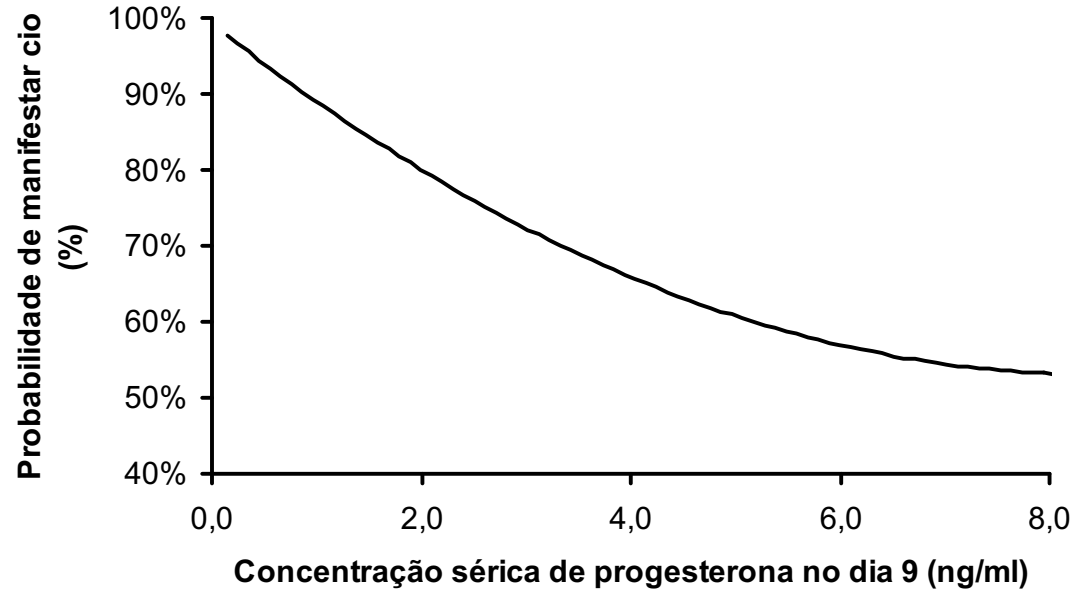


Figura 14. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de manifestar cio em 560 novilhas Nelore cíclicas, Xinguara-PA, 2008.

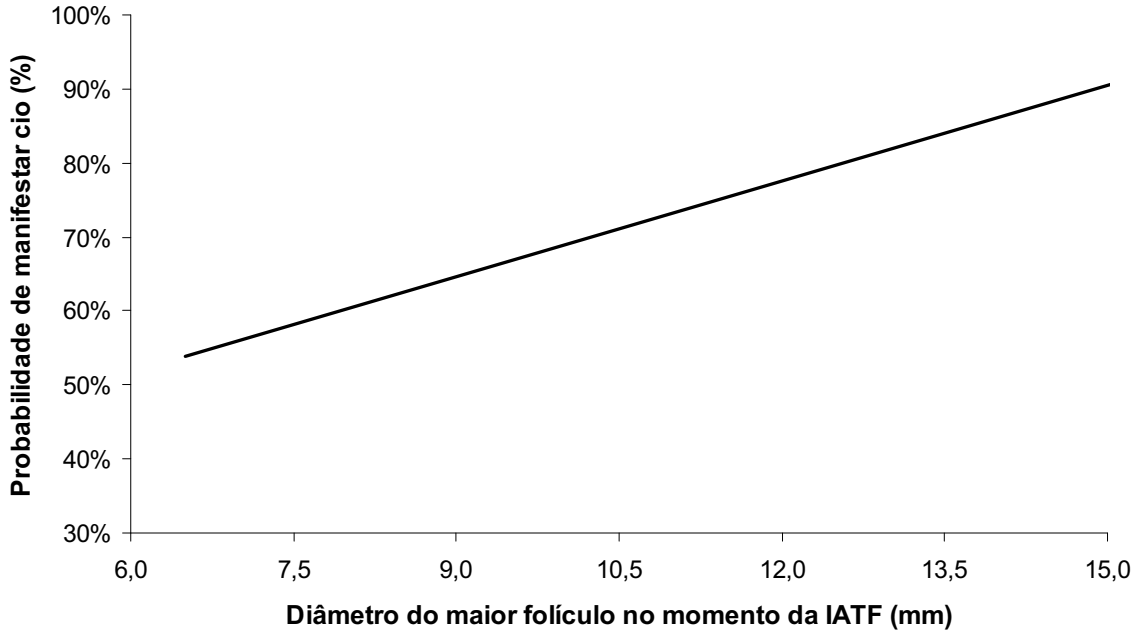


Figura 15. Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de manifestar cio em 560 novilhas Nelore cíclicas, Xinguara-PA, 2008.

Cio x Taxa de Concepção

Novilhas sincronizadas que demonstraram cio tiveram maior (54,6%; 213/390) concepção que os animais que não manifestaram cio (35,6%; 37/104) (P<0,05). A

variável concentração de P_4 no dia 9 e diâmetro do maior folículo no momento da IATF também influenciaram a taxa de concepção quando a variável cio foi adicionada no modelo. Novilhas que ovularam folículos com diâmetro menor ou igual a 10 mm e manifestaram cio (48,3%, 29/60) apresentaram maior (P<0,05) taxa de concepção em relação a novilhas que não demonstraram estro (27,5%, 11/40). Da mesma forma, novilhas que ovularam folículos maiores que 10 mm e manifestaram cio (58,1%, 172/296) também tiveram maior (P<0,05) taxa de concepção em relação às fêmeas que não manifestaram cio (43,6%, 24/55).

3.2 – Experimento 2

Concentração de Progesterona no dia 9

Vacas que receberam PGF2α no dia 7 apresentaram menor (P<0,05) concentração de P_4 em relação aos animais que receberam PGF2α no dia 9 (Tabela 3 e Figura 16 e 17). Não houve efeito do ECC na concentração de P_4 no dia 9.

Tabela 3. Valores descritivos da concentração sérica de progesterona no dia 9 de 398 vacas Nelore solteiras que receberam prostaglandina no dia 7 ou 9, Primavera do Leste-MT, 2008.

Parâmetros	PGF no dia 7		Valor de P
	Sim	Não	
Média (ng/ml)	3,05±0,21	4,58±0,21	<0,01
Amplitude (ng/ml)	0,68 – 9,48	0,81 – 12,87	-
Quartil Inferior*	1,93	2,43	-
Mediana	2,87	3,99	-
Quartil Superior**	3,84	6,10	-

* Quartil Inferior: Valor aos 25% da amostra ordenada em ordem crescente.
** Quartil Superior: Valor aos 75% da amostra ordenada em ordem crescente.

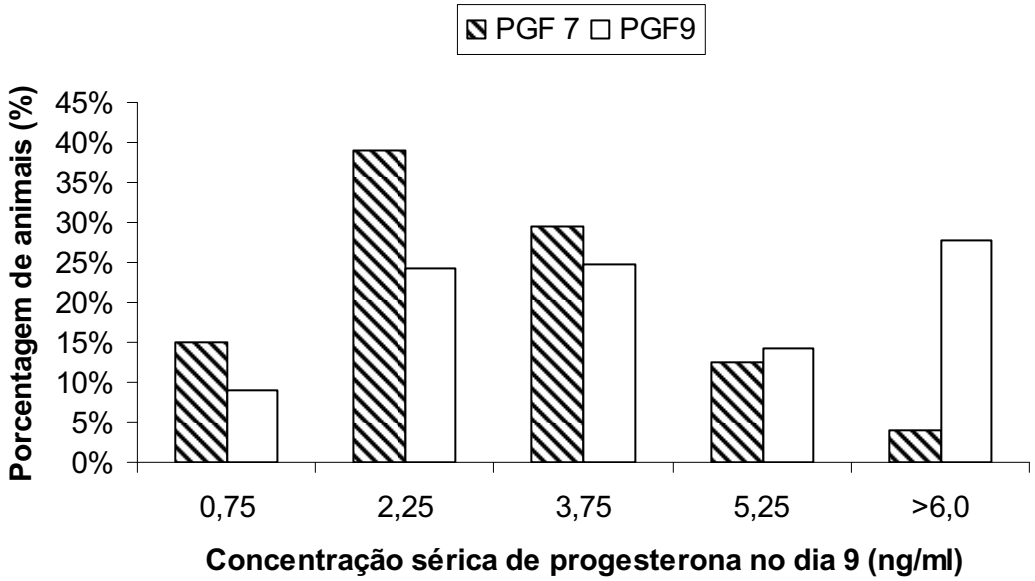


Figura 16. Distribuição de 398 vacas Nelore solteiras de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam PGF no dia 7 ou 9, Primavera do Leste-MT, 2008.

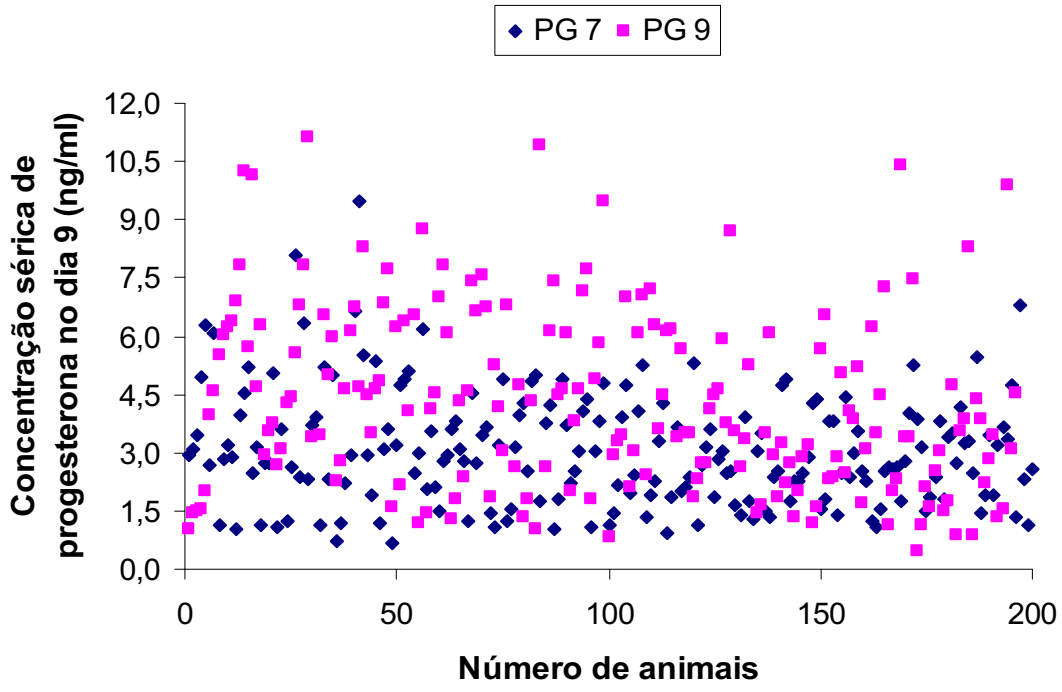


Figura 17. Distribuição de 398 vacas Nelore solteiras de acordo com a concentração sérica de progesterona no dia 9 que receberam PGF no dia 7 ou 9, Primavera do Leste-MT, 2008.

Diâmetro do maior folículo no momento da IATF

O diâmetro folicular de vacas que receberam PGF2α no dia 7 (11,54±0,21 mm; n=200) foi maior (P<0,05) em relação aos animais que receberam PGF2α no dia 9 (10,84±0,21 mm; n=198). A aplicação de 300 UI de eCG (11,47±0,21 mm; n=199) resultou em maior diâmetro folicular (P<0,05) em relação às vacas que não receberam eCG (10,96±0,20 mm; n=199).

A concentração de P_4 no dia 9 influenciou (P<0,05) de forma quadrática o diâmetro do maior folículo no momento da IATF (Figura 18). Houve interação entre a concentração de P_4 no dia 9 de forma quadrática e a aplicação de eCG no diâmetro do maior folículo (Figura 19). Não houve efeito do ECC no diâmetro do maior folículo.

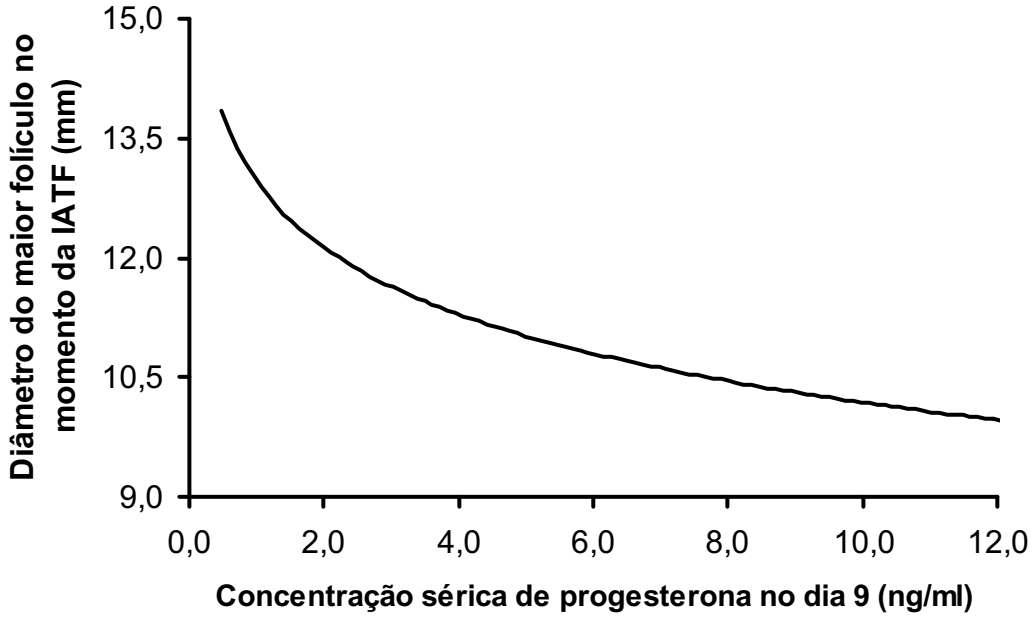


Figura 18. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 no diâmetro do maior folículo no momento da IATF de 398 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

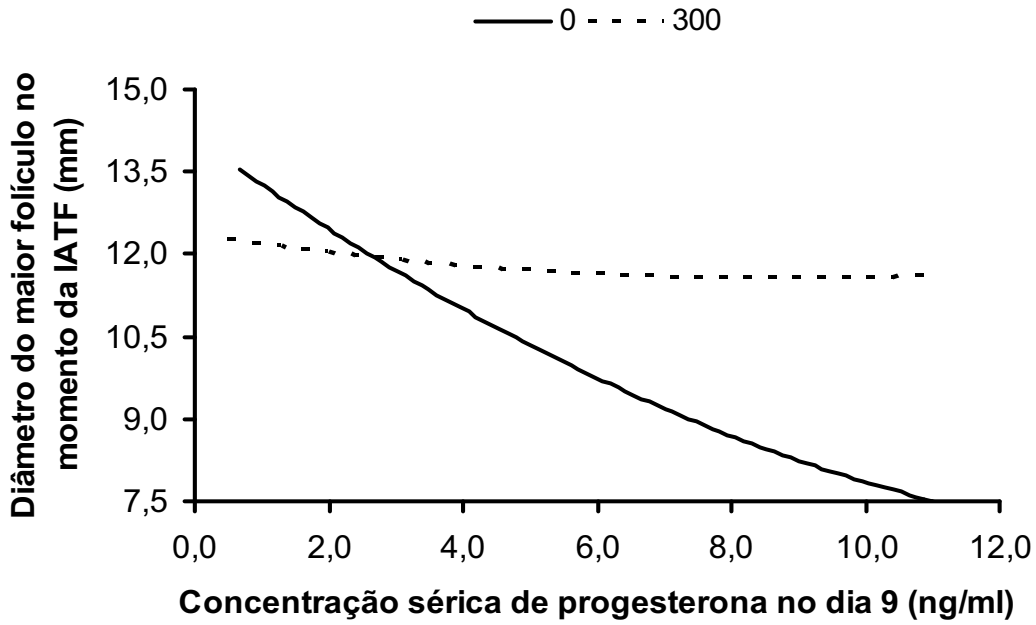


Figura 19. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 no diâmetro do maior folículo no momento da IATF de 398 vacas Nelore solteiras de acordo com a aplicação de eCG no dia 9, Primavera do Leste-MT, 2008.

Concentração sérica de progesterona no dia 18

Não houve efeito do momento da aplicação da PGF2α, do ECC e da concentração de P_4 no dia 9 na concentração de P_4 no dia 18. A aplicação de 300 UI de eCG (4,55±0,14 ng/ml) aumentou a P_4 ($P<0,05$) no dia 18 em relação aos animais que não receberam (3,24±0,14 ng/ml). O diâmetro do maior folículo no momento da IATF influenciou a concentração de P_4 no dia 18 (Figura 20).

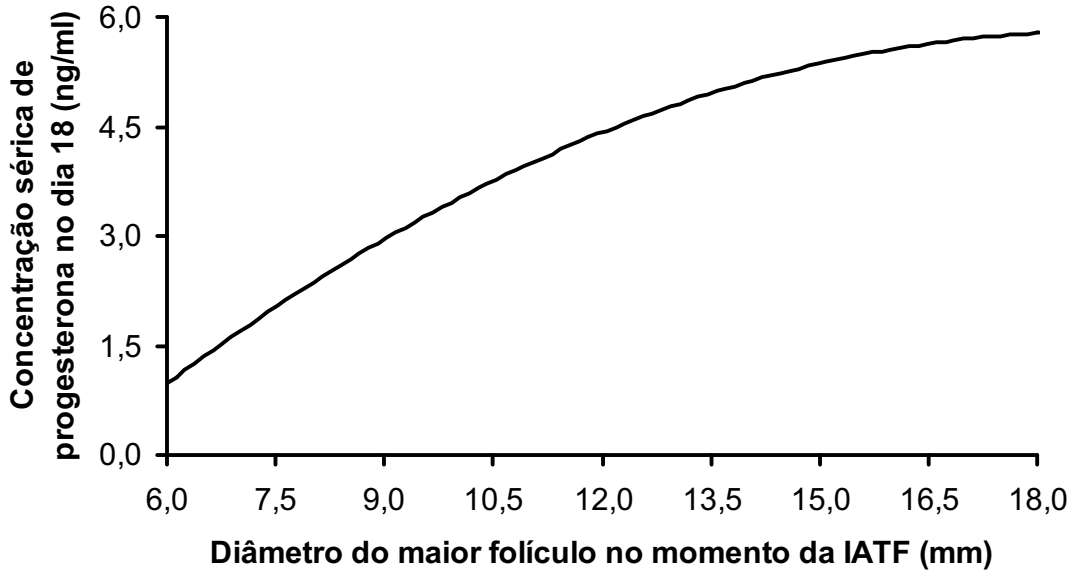


Figura 20. Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na concentração sérica de progesterona no dia 18 (sete dias após a IATF) de 398 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

Taxa de sincronização

Avaliação 1: Tratamentos

Houve efeito do momento da aplicação da PGF2α e da aplicação de eCG na probabilidade de sincronização (Tabela 4).

Avaliação 2: Tratamentos e covariáveis

O diâmetro do maior folículo no momento da IATF influenciou a probabilidade de sincronização (Figura 21).

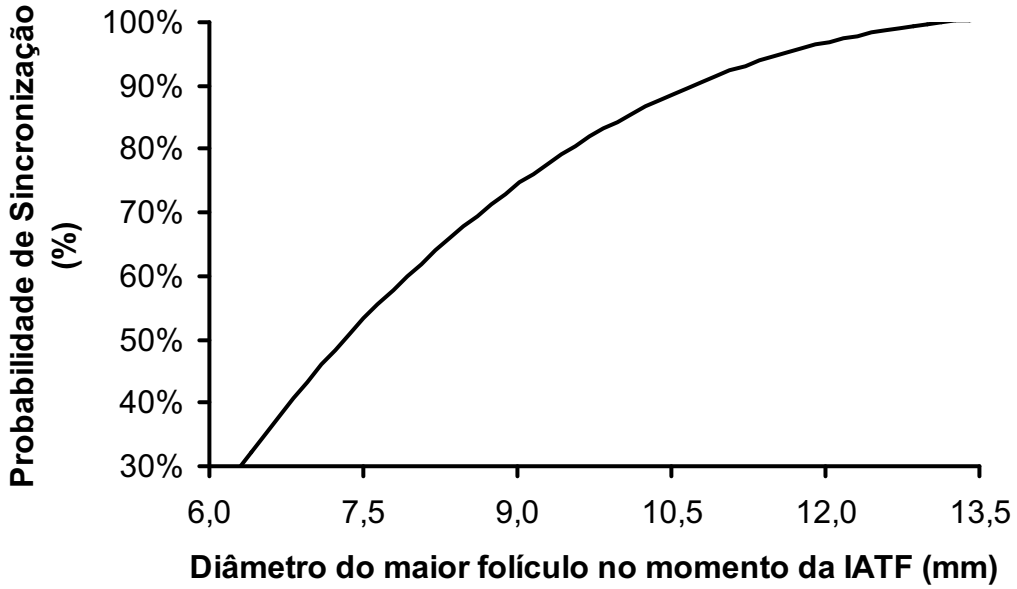


Figura 21. Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de sincronização (P4 > 1,0 ng/ml sete dias após a IATF) de 398 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

Taxa de concepção

Avaliação 1: Tratamentos

O momento da aplicação da PGF2α influenciou (P<0,05) a taxa de concepção (Tabela 4). Não houve efeito de aplicação de eCG, lote, touro e inseminador na taxa de concepção. O efeito do ECC na taxa de concepção está ilustrado na Figura 22.

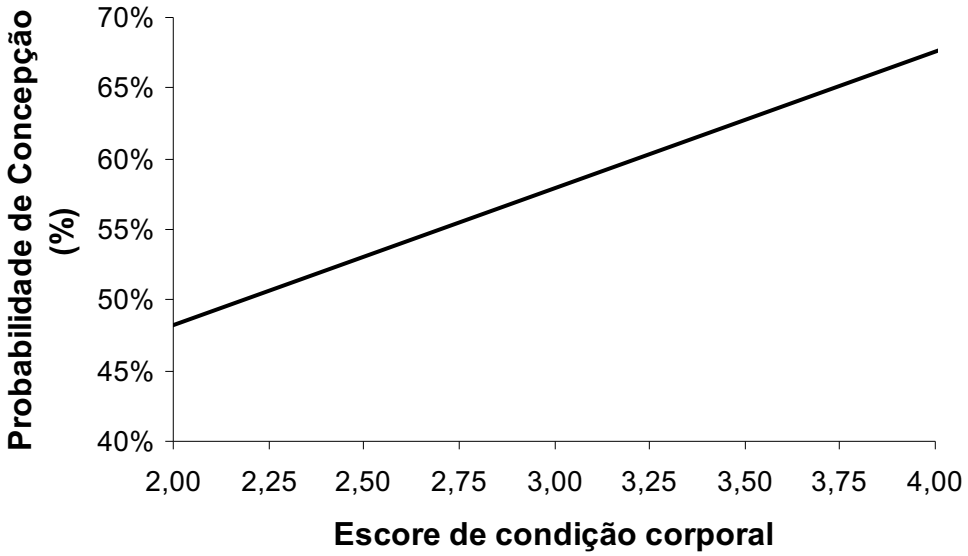


Figura 22. Efeito do escore de condição corporal na taxa de concepção de 702 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

Avaliação 2: Tratamentos e covariáveis

A concentração de P_4 no dia 9 (Figura 23) e no dia 18 (Figura 25) e o diâmetro do maior folículo de forma quadrática (Figura 24) influenciaram (P<0,05) a taxa de concepção.

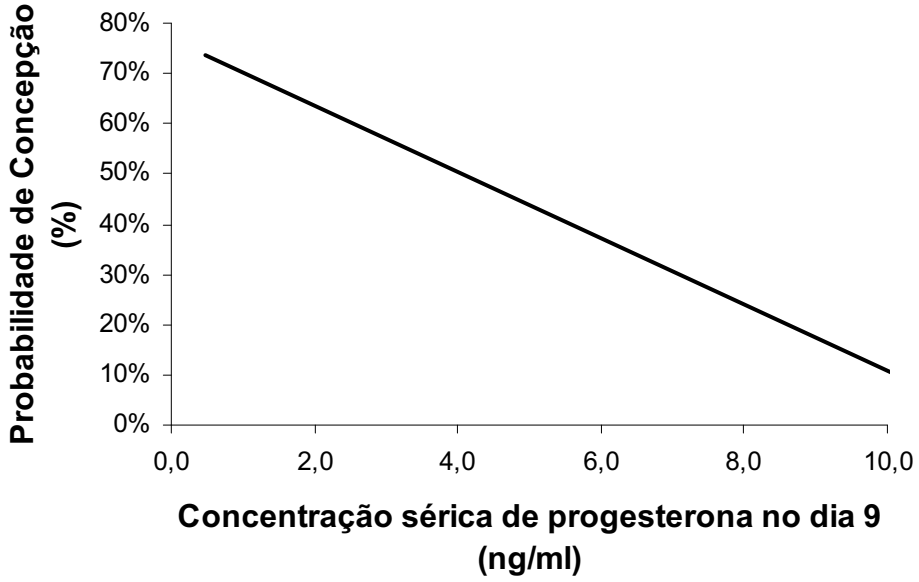


Figura 23. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de concepção de 398 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

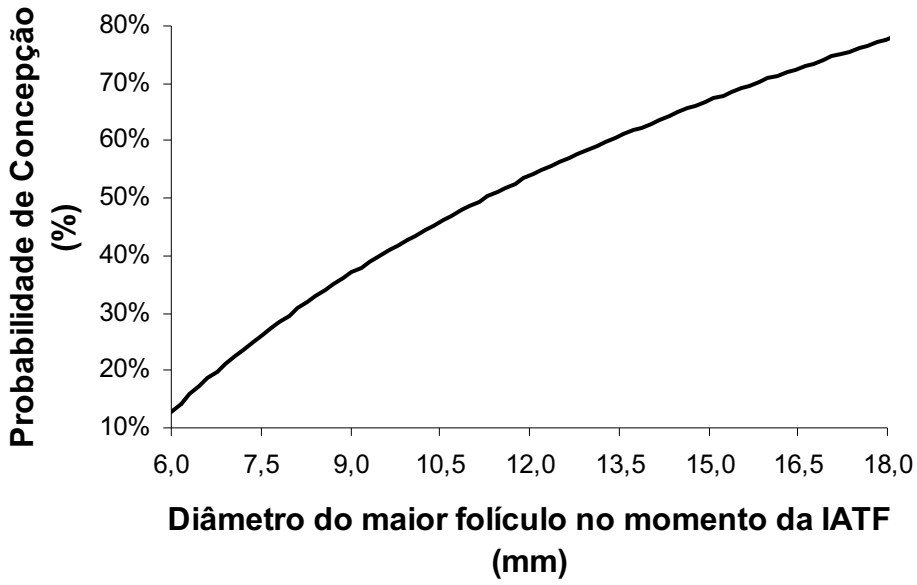


Figura 24. Efeito do diâmetro do maior folículo no momento da IATF na probabilidade de concepção de 398 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

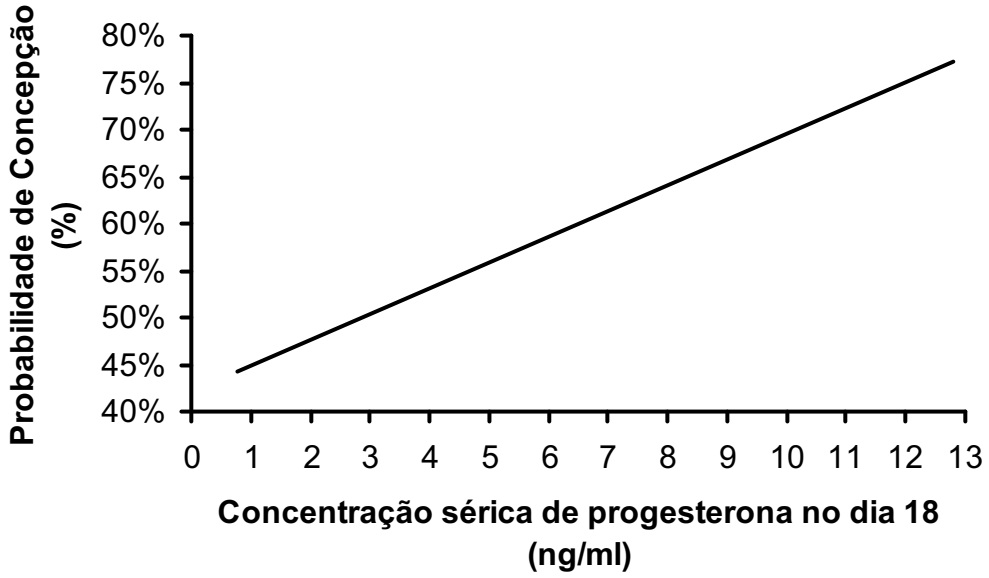


Figura 25. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 18 na probabilidade de concepção de 702 vacas Nelore solteiras, Primavera do Leste-MT, 2008.

Taxa de prenhez

Avaliação: Tratamentos

O momento da PGF2α e a aplicação de eCG influenciaram (P<0,05) a taxa de prenhez (Tabela 4). Não houve efeito de lote, touro, inseminador, ECC e interações.

Tabela 4. Taxa de sincronização, concepção e prenhez de 702 vacas Nelore solteiras com aplicação de prostaglandina no dia 7 ou 9 e que receberam ou não 300 UI de eCG, Primavera do Leste-MT, 2008.

Efeitos Principais		N	Taxa de sincronização (%)	Taxa de concepção (%)	Taxa de prenhez (%)
PGF 7		350	85,4[a] (299/350)	60,9[a] (182/299)	52,0[a] (182/350)
PGF 9		352	77,0[b] (271/352)	47,2[b] (128/271)	36,4[b] (128/352)
	0 UI eCG	352	72,4[x] (255/352)	51,8 (132/255)	37,5[x] (132/352)
	300 UI eCG	350	90,0[y] (315/350)	56,5 (178/315)	50,8[y] (178/350)
Tratamento		N	Taxa de sincronização (%)	Taxa de concepção (%)	Taxa de prenhez (%)
PGF 7	0 UI eCG	178	80,3 (143/178)	59,4 (85/143)	47,7 (85/178)
PGF 7	300 UI eCG	172	90,7 (156/172)	62,1 (97/156)	56,4 (97/172)
PGF 9	0 UI eCG	174	64,4 (112/174)	42,0 (47/112)	27,0 (47/174)
PGF 9	300 UI eCG	178	89,3 (159/178)	50,9 (81/159)	45,5 (81/178)

a, b Letras distintas na mesma coluna diferem estatisticamente; P<0,05
x, y Letras distintas na mesma coluna diferem estatisticamente; P<0,05

3.3 – Experimento 3

Taxa de prenhez

O momento da aplicação da PGF2α, presença de CL e ECC influenciaram (P<0,05) a taxa de prenhez e houve efeito (P<0,1) da interação entre momento da PGF2α e ciclicidade (Tabela 5). Não houve efeito do número de utilizações prévias do CIDR, fazenda, touro e inseminador. O escore de condição corporal influenciou na taxa de concepção (Figura 26).

Vacas com presença de CL e que receberam PGF2α no dia 7 (4,44±0,58 ng/ml) apresentaram menor (P<0,05) concentração de P_4 no dia 9 em relação aos animais com CL que receberam PGF2α no dia 9 (6,03±0,62 ng/ml). A concentração de P_4 no dia 9 interferiu na probabilidade de prenhez (Figura 27).

Tabela 5. Taxa de prenhez de vacas Nelore paridas que receberam prostaglandina no dia 7 ou 9, com ou sem corpo lúteo no dia 7, de três propriedades dos estados de Goiás, Mato Grosso e Paraná, 2008.

Efeitos Principais		N	Taxa de prenhez (%)
PGF2α 7		774	47,9[a] (370/774)
PGF2α 9		558	45,0[b] (251/558)
	Sem CL	1006	47,7[x] (480/1006)
	Com CL	326	43,5[y] (142/326)
Tratamento		**N**	**Taxa de prenhez (%)**
PGF2α 7	Sem CL	603	47,3 [a] (285/603)
PGF2α 7	Com CL	171	50,3 [a] (86/171)
PGF2α 9	Sem CL	403	48,4 [a] (195/403)
PGF2α 9	Com CL	155	36,1 [b] (56/155)

a, b Médias diferem estatisticamente; P<0,05
x, y Médias diferem estatisticamente; P<0,05

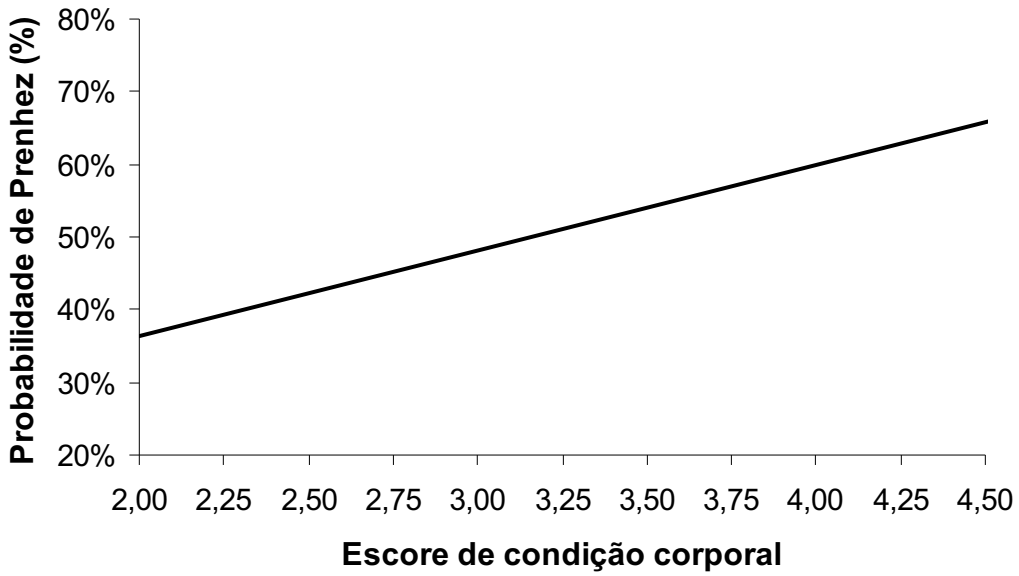


Figura 26. Efeito do escore de condição corporal na taxa de prenhez de 1,332 vacas Nelore paridas de três propriedades dos estados de Goiás, Mato Grosso e Paraná, 2008.

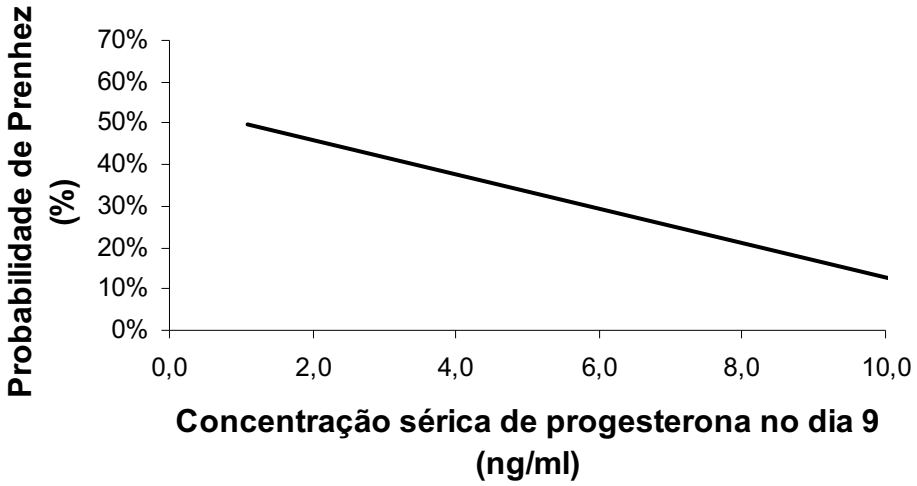


Figura 27. Efeito da concentração sérica de progesterona no dia 9 na probabilidade de prenhez de vacas Nelore paridas com presença de corpo lúteo no dia 7 do protocolo submetidas à IATF, Mato Grosso, 2008.

4- Discussão

Nesses estudos, maiores concentrações circulantes de P_4 ao final do protocolo em fêmeas zebuínas cíclicas diminuíram o diâmetro do folículo no momento da IATF e as taxas de concepção, sincronização e prenhez, comprovando parcialmente a hipótese inicial. O mecanismo pelo qual a concentração circulante de P_4 ao final do protocolo afeta negativamente os resultados da IATF pode estar relacionado à redução da pulsatilidade de LH e conseqüente diminuição do diâmetro do folículo dominante [18-21]. Animais que ovulam menores folículos apresentam menores concentrações de P_4 no diestro subseqüente [22-23] e existem correlações positivas entre diâmetro do folículo ovulatório e taxa de prenhez e entre concentração de P_4 no diestro e taxa de prenhez [22-23]. Estratégias como antecipação da aplicação de PGF2α no dia sete e emprego de dispositivos intravaginais de P_4 previamente utilizados podem diminuir a concentração de P_4 ao final do protocolo de IATF permitindo aumentar o diâmetro folicular, a concentração de P_4 no diestro subseqüente e as taxas de concepção, sincronização e prenhez. A aplicação de eCG é uma estratégia que pode ser utilizada em animais que apresentam limitação na pulsatilidade de LH devido à alta concentração de P_4 para aumentar o diâmetro folicular e aumentar a concentração de P_4 no diestro subseqüente, com impactos positivos na taxa de prenhez.

No experimento 1, novilhas Nelore que receberam dispositivo intravaginal de P_4 sem prévia utilização apresentaram maior concentração média de P_4 em relação

àquelas que receberam dispositivos previamente utilizados por 18 dias (Tabela 1), concordando com Dias [5].

De acordo com Santos et al. [24], a concentração de P_4 seria menor que 1,0 ng/ml a partir do vigésimo quinto dia de uso contínuo do dispositivo intravaginal de P_4 (CIDR®) em novilhas Red Angus, caso não apresente corpo lúteo. A variação na concentração de P_4 da fêmea durante o protocolo é dependente da fase do ciclo estral, pois fisiologicamente a liberação de P_4 pelo CL é crescente no início (até o 11º dia do ciclo estral), mantém uma fase estável onde a concentração de P_4 é máxima (entre o 11º e o 15º dia) e decai, atingindo níveis basais (menor que 1,0 ng/ml) após a ocorrência da luteólise [25]. Em um protocolo de sincronização da ovulação em fêmeas cíclicas, os animais estão distribuídos aleatoriamente em fases distintas pelos 21 dias do ciclo estral. Portanto, o dispositivo liberador de P_4 (usado ou não) é uma ferramenta para modificar a concentração de P_4, mas sua eficiência é dependente da fase do ciclo estral que a fêmea se encontra (Tabela 1 e Figuras 4 e 5). Resultados do Experimento 1, demonstram que apesar da concentração média de P_4 ser diferente quando utiliza-se CIDR de 1º uso (3,06 ng/ml) ou 3º uso (2,53 ng/ml), houve variação em cada tipo de CIDR, provavelmente devido às diferenças do momento do ciclo estral em que cada fêmea se encontrava (Figura 5).

No experimento 2, a antecipação da luteólise no dia 7 foi eficiente em diminuir a concentração de P_4 no dia 9. Nas fêmeas que receberam PGF2α no dia 9, a concentração circulante de P_4 era proveniente do dispositivo intravaginal mais a P_4 do CL (dependente da fase do ciclo), enquanto que vacas que receberam PGF2α no dia 7 apresentavam somente P_4 proveniente do dispositivo intravaginal. No início do ciclo estral, a resposta à PGF2α é menor [26], pois há maior proporção de animais com CL sem capacidade de sofrer luteólise. A eficácia do cloprostenol (análogo de PGF2α) em diferentes dias do ciclo estral foi avaliada e não houve diferença na eficácia da luteólise do dia 11 ao dia 17 [27]. No entanto, a resposta foi menor e crescente do dia 6 ao dia 10 do ciclo estral. Vacas no início do ciclo estral (1 a 5 dias) apresentam pouca ou nenhuma resposta à PGF2α e seus análogos [28]. A regressão do corpo lúteo foi de 100% quando a PGF2α foi aplicada no dia 7 do protocolo Ovsynch em vacas de leite [29] ou em vacas Nelore sincronizadas com BE + P_4 [30].

A aplicação de PGF2α no dia zero foi uma estratégia eficiente em diminuir a concentração de P_4 no fim do protocolo de novilhas pré-sincronizadas com duas aplicações de PGF2α e em aumentar o diâmetro do maior folículo no suposto momento da IA [6]. Nossos resultados indicam que a alta concentração de P_4 no fim do

protocolo prejudica os resultados de concepção, sincronização e prenhez à IATF em fêmeas Nelore. Portanto, a estratégia de antecipar a aplicação de PGF2α no dia 7, apesar de implicar em maior manejo com os animais, é eficaz (Experimento 2) em diminuir a concentração de P_4 no fim do protocolo em vacas. Outros trabalhos [5, 31] sugerem que mesmo antecipando a PGF2α em novilhas Nelore, a concentração de P_4 proveniente do dispositivo de 1º e 2º usos pode ser alta o suficiente para diminuir os resultados de prenhez nessa categoria. Portanto, o tratamento com 200 UI de eCG [dados do presente estudo; 31] em novilhas tem se mostrado uma boa estratégia para contornar a alta concentração de progesterona ao final do protocolo de IATF e baixa pulsatilidade de LH [18-21], aumentando a taxa de prenhez.

Novilhas e vacas com maior concentração de P_4 no dia 9 apresentaram menor diâmetro do folículo ovulatório. Esses dados estão de acordo com a literatura que menciona que níveis subluteais de P_4 (1,0 a 2,0 ng/ml) estimulam a liberação pulsátil de LH, enquanto altas concentrações de P_4 a inibem [18-20; 32]. A freqüência dos pulsos de LH é importante na manutenção do folículo dominante [33]. Quando a concentração de progesterona é mantida entre 1,0 e 2,0 ng/ml, a freqüência de pulsos de LH aumenta (um ou mais pulsos a cada duas horas) e o folículo dominante é mantido em crescimento, elevando as concentrações de estradiol [18-20]. Ginther et al. [21] relataram uma relação positiva entre concentração de LH e o tamanho do folículo dominante, sendo que quando há diminuição na freqüência dos pulsos de LH, diminui também a concentração média de LH e o diâmetro do folículo dominante.

Da mesma forma, nos experimentos 2 e 3, embora a concentração e a pulsatilidade de LH não tenham sido avaliadas, é possível que a redução na concentração circulante de P_4 devido à antecipação da aplicação de PGF2α permitiu aumento na pulsatilidade de LH e maior crescimento folicular do dia 7 ao dia 9, concordando com resultados onde a menor concentração de P_4 aumenta o número de pulsos de LH [18-21; 32]. A interação entre tratamento com eCG e concentração sérica de P_4 no dia 9 no diâmetro folicular (Experimento 2) demonstra que a eCG anulou o efeito prejudicial da alta concentração de P_4 no diâmetro folicular e que vacas que não receberam eCG apresentaram menor diâmetro folicular quando a concentração de P_4 foi alta. Esse resultado mostra que o tratamento com eCG é benéfico em animais que apresentam limitação na pulsatilidade de LH devido a alta concentração de P_4.

Nos experimentos 1 e 2, a administração de eCG aumentou o diâmetro do folículo e a taxa de sincronização, concordando com dados de outros autores [34-36].

A capacidade da eCG em se ligar a receptores de LH e FSH [37] deve ser responsável pelo efeito do eCG em aumentar o diâmetro folicular e a taxa de sincronização.

A relação positiva entre diâmetro folicular e taxa de sincronização já foi descrita por outros autores em fêmeas Nelore [5,38]. A divergência do crescimento folicular ocorre em fêmeas zebuínas com menor diâmetro (5,7 a 6,2 mm) [17,39] em relação às fêmeas taurinas (8,5 mm) [40] e apesar de ser possível induzir a ovulação de folículos menores (7,0 a 8,4 mm – 33%) [17] a capacidade ovulatória aumenta proporcionalmente com o aumento do diâmetro do folículo. Em protocolos de IATF a indução da ovulação de folículos imaturos é indesejada [41] e estratégias que aumentam o diâmetro folicular permitem maior taxa de sincronização.

Cipriano (2007) e Carvalho et al. (2008) com novilhas zebuínas e Colazo et al. (2008) com novilhas taurinas observaram que fêmeas com maior concentração de P_4 apresentaram menor taxa de ovulação. A alta concentração de P_4 diminui os pulsos de GnRH e a regulação de seus receptores na hipófise, podendo comprometer a taxa de ovulação [44]. Animais com menor concentração de P_4 no dia 9 tiveram maior diâmetro do folículo ovulatório e provável maior produção de estradiol. O estradiol aumenta a responsividade da hipófise ao GnRH pelo aumento de seus receptores [45] ou por ação direta estimulando a secreção de LH [46]. Nos três experimentos, o estímulo ovulatório foi realizado com cipionato de estradiol, porém a alta concentração de P_4 no final do protocolo prejudicou o desenvolvimento folicular e a probabilidade desse folículo ovular após o estímulo com estradiol.

Também houve efeito da concentração de progesterona no final do protocolo na taxa de concepção em novilhas e vacas efetivamente sincronizadas. Apesar da probabilidade de sincronização ter sido menor quando a progesterona foi alta (Experimento 1 - Figura 8; Experimento 2 - Tabela 4), esses dados indicam que mesmo ocorrendo ovulação, a concepção foi menor (Experimento 1 - Figuras 6 e 10; Experimento 2 - Figuras 18 e 23). Perry et al. [23,41] também encontraram menor taxa de concepção quando folículos menores foram induzidos a ovular com GnRH. Alterações no ambiente uterino podem ser responsáveis por baixas taxas de concepção quando folículos imaturos são induzidos a ovular [47].

O tratamento com eCG mostrou-se uma forma de amenizar os efeitos negativos da alta concentração de progesterona antes da IATF sobre a taxa de concepção em novilhas (Experimento 1). Nesse momento do protocolo, a eCG fornece suporte o crescimento final do folículo dominante, permitindo maior taxa de concepção quando novilhas apresentam alta concentração de P_4 ao final do protocolo de sincronização.

Em vacas, a aplicação antecipada da PGF2α no dia 7 aumentou a taxa de concepção, sincronização (Experimento 2) e prenhez (Experimentos 2 e 3), concordando com [48], provavelmente por permitir um ambiente endócrino mais favorável ao desenvolvimento folicular final. No experimento 2, o tratamento com eCG foi uma estratégia eficiente em aumentar a taxa de prenhez, por melhorar a taxa de sincronização sem, no entanto, alterar a taxa de concepção. O capacidade da eCG de se ligar a receptores de LH e FSH [37] confere um maior crescimento folicular e maior taxa de sincronização [34]. Logo, as estratégias de antecipação da aplicação da PGF2α para o dia 7 ou a aplicação de 300 UI de eCG são eficientes em aumentar a taxa de prenhez em vacas, demonstrando a importância do suporte de LH ao final do protocolo.

Animais que manifestaram cio apresentaram maior taxa de concepção em relação aos animais que não manifestaram, concordando com [23,41]. Novilhas que manifestaram cio apresentaram menor concentração de P_4 no momento da retirada do dispositivo (Figura 14) e maior diâmetro folicular no momento da IATF (Figura 15). Possivelmente, novilhas com menores concentrações circulantes de P_4 no momento da retirada do dispositivo, tiveram maior pulsatilidade de LH e o folículo dominante foi mantido em crescimento, elevando as concentrações pré-ovulatórias de estradiol [18-21], aumentando a probabilidade de manifestação de cio [23,41] e taxa de concepção [23,41].

É possível que a interrupção das concentrações pré-ovulatórias de estradiol quando folículos imaturos são induzidos a ovular possa ser responsável pela falta de suporte ao útero para estabelecer a gestação [52]. Dados revisados por Day [47] indicam que diminuir a secreção pré-ovulatória de estradiol pelo folículo antes da ovulação induzida pode alterar a morfologia do endométrio uterino, reduzindo a capacidade do útero em secretar histotrofo uterino, elemento importante no desenvolvimento embrionário inicial antes da placentação [53].

Novilhas que ovularam folículos menores que 10 mm e manifestaram cio apresentaram maior taxa de concepção quando comparadas com novilhas que não demonstraram estro, indicando que a capacidade desses folículos em produzir estradiol pode ser mais importante que o diâmetro folicular em si em estimar a fertilidade subseqüente [22, 49-51], entretanto, e diâmetro folicular pode ser um bom preditor da maturidade do folículo, porém o status folicular parece ser mais importante que o diâmetro em si para estimar a fertilidade.

Um outro possível mecanismo para diminuição da taxa concepção em animais que ovulam folículos pequenos pode ser a ocorrência de luteólise prematura [51].

Trabalhos com ovelhas realizados por [54,55] mostraram que três estágios de exposição esteroidal são necessários para o desenvolvimento de um ambiente uterino favorável à concepção. A primeira é a fase de exposição à P_4 imediatamente antes do estro, seguindo-se uma fase de concentrações crescentes de E_2 no estro e, finalmente, a manutenção de concentrações de P_4 suficientes no ciclo estral subseqüente. Nesse contexto, é possível haver um efeito coadjuvante do E_2 à P_4 na inibição da luteólise prematura [38,56].

Os resultados do presente trabalho estão de acordo com autores que evidenciaram que há efeito da diminuição do diâmetro folicular na fertilidade [23,57] e os efeitos negativos da indução da ovulação de folículos imaturos parecem estar relacionadas a alterações no útero [51].

Day e Bridges [52] sugeriram que o período de proestro é um preditor mais importante na fertilidade subseqüente em relação ao diâmetro ou idade do folículo. De acordo com a fisiologia natural do ciclo estral, a maturação do folículo durante o proestro ocorre quando as concentrações plasmáticas de P_4 são inferiores a 1,0 ng/ml [18]. Dados do presente estudo mostram que menor concentração de P_4 ao final do protocolo permite maior diâmetro folicular na IATF e aumento na taxa de sincronização e concepção. Apesar de o valor da concentração circulante de P_4 a partir do qual o desenvolvimento folicular é prejudicado não ter sido estabelecido, estratégias que diminuem essa concentração parecem ser eficientes em gerar um ambiente de melhor desenvolvimento e/ou maturidade folicular, contribuindo para melhorar os índices reprodutivos em protocolos de IATF.

A concentração de P_4 pós-IA em fêmeas Nelore tem um impacto no aumento da taxa de concepção, concordando com os dados de [7, 11-13, 22-23, 41, 49-50]. A administração de P_4 pós-IA melhorou o desenvolvimento dos embriões, que eram maiores e apresentaram maior secreção de proteínas, indicando serem mais maduros e funcionais [58]. O desenvolvimento do embrião é crítico para suprimir a secreção de PGF2α e manter o corpo lúteo, pois, a secreção de interferon-Tau está relacionada com o desenvolvimento do embrião, inibindo a secreção de PGF2α pelo útero [59]. A correlação positiva entre diâmetro folicular e concentração de P_4 no diestro com taxa de prenhez já foi verificada por outros autores [22-23]. Portanto estratégias que aumentam o diâmetro folicular também aumentam a concentração de P_4 no diestro e a taxa de prenhez.

Concordando com os dados de Baruselli et al. [36], a aplicação de eCG é uma estratégia eficiente em aumentar a concentração de P_4 no diestro subseqüente e a taxa de prenhez.

De acordo com a literatura, há relatos de menor taxa de prenhez em protocolos e IATF em animais com escore de condição baixo [60-62]. A menor taxa de prenhez pode ser uma associação de fatores que podem afetar a taxa de sincronização e concepção. No Experimento 3, vacas com menor ECC apresentaram pior taxa de prenhez. Vasconcelos et al. [62] verificaram menor folículo em vacas paridas com menor ECC, o que pode prejudicar tanto a taxa de sincronização quanto a taxa de concepção e, em conseqüência a taxa de prenhez. No Experimento 2, menor ECC foi associado com menor taxa de concepção, indicando que após a ovulação, a capacidade de estabelecer a prenhez é prejudicada quando as vacas têm comprometimento no ECC. Vacas com menor ECC ovulam folículos com menor diâmetro [62] e a ovulação de folículos menores diminui a taxa de concepção em vacas e novilhas [23-41]. Souza [63] verificou que vacas com ECC menor que 2,75 apresentaram menor concentração sérica de P_4 no diestro em relação a vacas com ECC maior igual a 2,75.

A sincronização da onda folicular com benzoato de estradiol e P_4 nesse estudo provavelmente induziu o início de uma nova onda folicular 3 a 4 dias após, na maior parte dos animais [64]. A indução da ovulação de folículos persistentes é pouco provável com o uso desse protocolo. No entanto, a indução de folículos imaturos pode ocorrer, pois o crescimento folicular pode ser limitado quando a concentração de P_4 é alta durante o protocolo [dados do presente estudo; 5, 6, 42]. Portanto, a busca por estratégias que diminuem a concentração de P_4 ao final do protocolo (antecipação da PGF2α e número de prévias utilizações do dispositivo intravaginal de P_4) ou minimizem seu efeito (eCG) devem ser consideradas em programas de IATF em fêmeas Nelore cíclicas

5- Conclusões

- A alta concentração de P_4 diminuiu o diâmetro do maior folículo no momento da IATF, e em conseqüência disso, as taxas de sincronização, concepção e prenhez. O diâmetro do folículo no momento da IATF é um bom parâmetro de maturidade folicular, porém o status folicular parece ser mais importante em si como preditor de fertilidade.

- Maior diâmetro folicular no momento da IATF está relacionado com mais P_4 no diestro subseqüente e maior probabilidade de concepção.

- A aplicação antecipada de PGF2α no dia 7 diminuiu a concentração de P_4 pré-IA e aumentou as taxas de sincronização, concepção e prenhez em vacas.

- Dispositivo intravaginal de P4 previamente utilizado por 18 dias diminuiu a concentração P_4 no final do protocolo, mas não influenciou as taxas de sincronização, concepção e prenhez, provavelmente devido ao momento da aplicação da PGF2α.

- A administração de eCG aumentou a taxa de sincronização e prenhez em vacas e novilhas e aumentou a taxa de concepção em novilhas com alta concentração de P_4 no final do protocolo.

- Em novilhas, a aplicação de 200 UI de eCG aumentou a taxa de prenhez.

6- Referências Bibliográficas

[1] FIGUEIREDO RA, BARROS CC, PINHEIRO OL, SOLER JMP. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos indicus).* Theriogenology 1997, v. 47, p.1489 – 1505.

[2] PINHEIRO OL, BARROS CM, FIGUEREDO RA, DO VALLE ER, ENCARNAÇÃO RO, PADOVANI CR. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2alpha or norgestomet and estradiol valerate. Theriogenology 1998, v. 49, p. 667 - 681.

[3] MARQUES MO, SÁ FILHO MF, GIMENES LU, FIGUEIREDO TB, SÓRIA GF, BARUSELLI PS. Efeito do tratamento com PGF2α na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. Acta Sci Vet 2005, v. 33 (Suppl 1): p. 287 (abstract).

[4] VALARELLI RL, VASCONCELOS JLM. In: Symphosium of Reproduction in Domestic Ruminants VI. 7. Proceedings...2006: 504 (abstract).

[5] DIAS CC. Avaliação dos efeitos da concentração de progesterona nas respostas ao protocolo de sincronização da ovulação em novilhas Nelore cíclicas. Dissertação de Mestrado apresentada a FMVZ-UNESP. 2007.

[6] CARVALHO JBP, CARVALHO NAT, REIS EL, NICHI M, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers. Theriogenology 2008, v. 69, p. 167 – 175.

[7] HENRICKS DM, LAMOND DR, HILL JR, DICKEY JF. Plasma progesterone concentrations before mating and in early pregnancy in the beef heifers. J Anim Sci 1971, v. 33, p. 450 – 454.

[8] FOLMAN Y, ROSENBERG M, HERZ Z, DAVIDSON M. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. J Reprod Fertil 1973, v. 34, p. 267 – 278.

[9] FOLMAN Y, KAIM M, HERZ Z, ROSENBERG M. Comparison of methods for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2.Effects of progesterone and parity on conception. J Dai Sci 1990, v. 73, p. 2817 - 2825.

[10] FONSECA FA, BRITT JH, McDANIEL BT, WILK JC, RAKES AH. Reproductive traits of Holstein and Jerseys. Effects of age, milk yield, and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrous cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. J Dai Sci 1983, v. 66, p.1128 - 1147.

[11] McNEIL RE, DISKIN MG, SREENAN JM, MORRIS DG. Associations between milk progesterone on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. Theriogenology 2006, v. 65, p. 1435 – 1441.

[12] STARBUCK GR, GUTIERREZ CG, PETERS AR, MANN GE. Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronization of oestrus in cows. Veter J 2006, v. 172, p. 103 – 108.

[13] MANN GE, LAMMING GE. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. Reprod Dom Ani 1999, v. 34, p. 269 - 274.

[14] MANN GE, GREEN MP, SINCLAIR KD, DEMMERS KJ, FRAY MD, GUTIERREZ, CG, GARNSWORTHY PC, WEBB R. Effects of circulating progesterone and insulin on early embryo development in beef heifers. Ani Reprod Sci 2003, v. 79, p. 71 – 79.

[15] NOGUEIRA MFG, MELO DS, CARVALHO LM, FUCK EJ, TRINCA LA, BARROS CM. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo transfer recipients synchronized with PGF2α and eCG? Theriogenology 2004, v. 61, p. 1283 – 1290.

[16] LOWMAN BG, SCOTT N, SOMERVILLE, S. Condition scoring of cattle. Bulletin East Scotland College Agriculture, n°6, 1976

[17] GIMENES LU, CARVALHO NAT, SÁ FILHO MF, AYRES H, TORRES-JÚNIOR J RS, SOUZA AH, BÓ GA, BARROS CM, SARTORELLI ES, BARUSELLI PS, MAPLETOF RJ. Follicle deviation and ovulatory capacity in Bos indicus heifers. J Reprod Fertil 2007, (Suppl 1), p. 242. (abstract 251)

[18] STOCK AE, FORTUNE JE. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. Endocrinology 1993, v. 132, p. 1108 - 1114.

[19] SAVIO JD, THATCHER WW, MORRIS GR, ENTWISTLE K, DROST M, MATTIACCI MR. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. J Reprod Fertil 1993, v. 98, p. 77 - 84.

[20] AHMAD N, SCHRICK FN, BUTCHER RL, INSKEEP K. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. Biol Reprod 1995, v. 52, p. 1129 - 1135.

[21] GINTHER OJ, WILTBANK MC, FRICKE PM, GIBBONS JR, KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. Biol Reprod 1996, v. 55, p. 1187 -1194.

[22] MUSSARD ML, BURKE CR, BEHLKE EJ, GASSER CL, ROBINSON AR, KINDER JE, DAY ML. Influency of premature induction of LH surge with GnRH on ovulation, luteal function and fertility in cattle. Biol Reprod 2002, v. 66, (Suppl 1), p. 266, (abstract 415).

[23] PERRY GA, SMITH MF, LUCY MC, GREEN AJ, PARKS TE, MacNEIL MD, ROBERTS AJ, GEARY TW. Relationship between follicle size pregnancy sucess. Proc Nat Acad Sci 2005 v. 102, n. 14, p. 5268 - 5273.

[24] SANTOS RM, VASCONCELOS JLM, PEREZ GC, MACIEL ABB, SÁ FILHO OG. Serum progesterone concentrations in Nellore x Angus heifers treated with CIDR 1.38g or CIDR 1.9g device. J Dai Sci 2004, v. 83 (Suppl.1), p.214 (abstract).

[25] CUPP AS, STUMPF TT, KOLIMA FN, WERTH LA, WOLFE MW, ROBERSON MS, KITTOK RJ, KINDER JE. Secretion of gonadotrophins change during the luteal phase of the bovine oestrus cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17-beta estradiol. Ani Reprod Sci 1995, v. 37, p. 109 – 119.

[26] ODDE KG. A review of synchronization estrus in postpartum cattle. J Ani Sci 1990, v. 68, 0. 817 – 830.

[27] FERNANDES CAC, FIGUEIREDO ACS. Avanços na utilização de prostaglandinas na reprodução de bovinos. Rev Bras Reprod Ani 2007, v. 31, p. 406 – 414.

[28] LAUDERDALE JW. Effects of PGF2α on pregnancy and estrus cycle of cattle. J Ani Sci 1972, v. 35, p. 246 (abstract).

[29] VASCONCELOS JLM, ARAÚJO TPB, CERRI RLA, VALARELLI RL, WEDHSLER FS. Ovulation and synchronization rates in Holstein and crossbred lactating dairy cows during two seasons when receiving the PGF2α injection on D6 or 7 of the Ovsynch protocol. J Dai Sci 2000, v. 83, (Suppl. 1), p. 214 (abstract).

[30] LOSI TC, MARTINS JUNIOR AP, MENEGHETTI M, VILELA ER, VASCONCELOS JLM. Protocolos de sincronização de ovulação a base de progesterona e estradiol em vacas de corte paridas: 1. Avaliação de diferentes doses de prostaglandina. In:

CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL. 15. Anais… CD-ROOM (abstract).

[31] MENEGHETTI M, MARTINS JR AP. Adição de eCG em protocolo de inseminação artificial em tempo fixo na taxa de concepção de novilhas Nelore ciclando. Acta Sci Vet 2008. (*in press*)

[32] RAHE CH, OWENS RE, FLEEGER JL, NEWTON HJ, HARMS PG. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. Endocrinology 1980, v. 107, p. 498 - 503.

[33] TAFT R, AHMAD N, INSKEEP EK. Exogenous pulses of luteinizing hormone cause persistence of the largest bovine ovarian follicle. J Ani Sci 1996, v. 74, p. 2985 - 2991.

[34] SÁ FILHO MF, REIS EL, VIEL Jr JO, NICHI M, MADUREIRA EH, BARUSELLI PS. Dinâmica folicular de vacas Nelore lactantes em anestro tratadas com progestágeno, eCG e CnRH. Acta Sci Vet 2004, v.32, p.235, 2004 (abstract).

[35] SÁ FILHO MF, PENTEADO L, REIS EL, GIMENES LU, BARUSELLI PS. Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular e na taxa de concepção de novilhas Nelore tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol. Acta Sci Vet 2005, v.33 (Suppl.1), p.265 (abstract).

[36] BARUSELLI PS, REIS EL, CARVALHO NAT, CARVALHO JBP. eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nellore heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 15, 2004. Proceedings… v. 1, p. 117, 2004 (abstract).

[37] MURPHY BD, MARTINUK SD. Equine chorionic gonadotropin. Endocrine Reviews 1991, v. 12, p.1305 – 1319.

[38] SÁ FILHO OG. Efeito de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura de corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto. Tese de mestrado apresentada a FMVZ-Unesp, Campus de Botucatu, 2007.

[39] SARTORELLI ES, CARVALHO LM, BERGFELT DR, GINTHER OJ, BARROS CM. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. Theriogenology 2005, v. 63, p. 2382 – 2394.

[40] SARTORI R, HAUGHIAN JM, SHAVER RD, ROSA GJM, WILTBANK MC. Comparison of Ovarian Function and Circulating Steroids in Estrous Cycles of Holstein Heifers and Lactating Cows. J Dai Sci 2004, v. 87, p. 905 – 920.

[41] PERRY GA, SMITH MF, ROBERTS AJ, MacNEIL MD, GEARY TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy sucess in beef heifer. J Ani Sci 2007, v.85, p. 684 - 689.

[42] CIPRIANO RS. Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo com diferentes concentrações de progesterona. Dissertação de Mestrado apresentada à FMVA, 2007.

[43] COLAZO MG, KASTELIC JP, DAVIS H, RUTLEDGE MD, MARTINEZ MF, SMALL JA, MAPLETOFT RJ. Effects of plasma progesterone concentrations on LH release and ovulation in beef cattle given GnRH. Dom Ani Endoc 2008, v. 34, p. 109 – 117.

[44] TURZILLO AM, MILLER MW, NETT TM. Pulsatile GnRH increases concentrations of GnRH receptor mRNA and numbers of GnRH receptors during luteolysis in the ewe. Biol Reprod 1995, v. 53, p. 418 – 423.

[45] NETT TM, TURZILLO AM, BARATTA M, RISPOLI LA. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. Dom Ani Endoc 2002, v. 23, p. 33 – 42.

[46] BARATTA M, WEST LA, TURZILLO AM, NETT TM. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. Biol Reprod 2001, v. 64, p. 714 – 719.

[47] DAY ML. Efeito de estratégias de sincronização da ovulação no desenvolvimento folicular e na concepção. In: IX Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos, CD-ROOM, 2005.

[48] SÁ FILHO OG, VASCONCELOS JLM, SANTOS RM, ROSSINI LCC. Efeito do momento da aplicação de $PGF2_{\alpha}$ em protocolo de inseminação artificial com tempo fixo na taxa de concepção em novilhas de corte. Rev Bras Reprod Ani, v. 27, p. 3, 2003 (abstract).

[49] MUSSARD ML, BURKE CR, GASSER CL, BEHLKE EJ, COLLIFLOWER KA, GRUM DE, DAY ML. Ovulatory response, luteal function and fertilityin cattle induced to ovulate dominance follicles of early or late maturity. Biol Reprod 2003, v. 68: (Suppl 1), p. 332 (abstract 535).

[50] MUSSARD ML, BURKE CR, DAY ML. Ovarian follicle maturity at induced ovulation influences fertility in cattle. In: Proceedings of the Animal Conference of the Society for Theriogenology. Proceedings…2003, p. 179 (abstract).

[51] BRIDGES A, MUSSARD ML, GASSER CL, GRUM DE, DAY ML. Influence of duration of proestrous on circulating estradiol, the LH surge and luteal function in cattle. J Ani Sci 2004, v. 82, (Suppl 1), p. 102 (abstract 102).

[52] DAY ML, BRIDGES A. Impacto das concentrações de hormônios esteróides sobre a fertilidade de bovinos. In X Curso Novos Enfoques da Produção e Reprodução de Bovinos, CD-ROOM, 2006.

[53] GEISERT RD, ZAVY MT, BIGGERS BG, GARRETT JE, WETTEMANN RP. Characterization of the uterine environment during early conceptus expansion in the bovine. Ani Reprod Sci 1988, v. 16, p. 11 - 25.

[54] MOORE NW. The use of embryo transfer and steroid hormone replacement therapy in the study of prenatal mortality. Theriogenology 1985, v. 23, p. 121 - 129.

[55] WILMUT I, SALES DI, ASHWORTH CJ. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. J Reprod Fertil 1986, v. 76, p. 851 - 864.

[56] FIKE KE, DAY ML, INSKEEP EK, KINDER JE, LEWIS PE, SHORT RE, HAFS HD. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. J Ani Sci 1997, v. 75, p. 2009 - 2015.

[57] VASCONCELOS JLM, SARTORI R, OLIVEIRA HN, GUENTHER JN, WILTBANK MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. Theriogenology 2001, v. 56, p. 307 - 314.

[58] GARRETT JE, GEISERT RD, ZAVY MT, MORGAN GL. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. J Reprod Fertil 1988, v. 84, p. 437 - 446.

[59] THATCHER WW, HANSEN PJ. Systems to alter embryo survival. In: LARGE DAIRY HERD MANAGEMENT. Champaign: American Dairy Science Association, p. 164 - 175, 1992.

[60] BARUSELLI OS, MADUREIRA EH, MARQUES MO, RODRIGUES CA, NASSER LF, SILVA RCP, REIS EL, SÁ FILHO MF. Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo. Acta Sci Vet 2004, v. 32 (Supl. 1). p. 228 (abstract).

[61] MENEGHETTI M, LOSI TC, MARTINS JR. AP, VILELA ER, VASCONCELOS JLM. Uso de protocolo de IATF associado a diagnostico precoce de gestação e ressincronização como estratégia para maximizar o número de vacas gestantes por IA em estação de monta reduzida. Hora Vet 2005, v. 147, p. 25 - 27.

[62] VASCONCELOS JLM, SÁ FILHO OG, PEREZ GC. SILVA ATN. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus x Nelore cows. Ani Reprod Sci 2008, (*in press*).

[63] SOUZA AH. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. Tese de Doutorado apresentada à FMVZ-USP, 2008. 152f.

[64] BURKE CR, MACMILLAN KL, BOLAND MP. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced Suppression of LH release in ovariectomised cows. Ani Reprod Sci 1996, v. 45, p. 13 – 28.

CAPÍTULO 3

CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

Conclusões Gerais e Implicações

Os resultados desses experimentos suportam a hipótese inicial de que alta concentração de progesterona no final do protocolo de sincronização da ovulação diminui o diâmetro do maior folículo no momento da IATF e consequentemente as taxas de sincronização, concepção e prenhez.

Vários trabalhos na literatura demonstram o efeito negativo da alta concentração de progesterona sobre a pulsatilidade de LH e crescimento folicular, assim como o efeito inverso da baixa concentração de progesterona permitindo um maior crescimento folicular e a possível formação de folículos envelhecidos e/ou persistentes, porém relatos com fêmeas zebuínas são escassos. Grande parte dos estudos que avaliaram o efeito da concentração de progesterona pré-ovulação na taxa de prenhez foram realizados utilizando vacas Holandesas com alta produção de leite e utilizaram o protocolo Ovsynch.

É pouco provável que haja a formação de folículos envelhecidos e/ou persistentes com protocolos que utilizam a associação de progesterona e estradiol para sincronizar a emergência uma nova onda folicular, devido ao bloqueio de FSH e LH. A preocupação dos protocolos que associam progesterona e estradiol deve ser em evitar a ovulação de folículos imaturos. Durante o protocolo de sincronização da ovulação em vacas em anestro, a única fonte de progesterona disponível é proveniente do dispositivo intravaginal. Em fêmeas cíclicas, entre 40 a 45% das fêmeas tem um corpo lúteo funcional ao final do protocolo (fêmeas que estão em estro até o 9º dia do ciclo estral, considerando a luteólise no 18º dia), o que aumenta significativamente a concentração de progesterona e provavelmente diminui pulsos de LH e o tamanho do folículo ovulatório. O prejuízo decorrente da ovulação de folículos imaturos parece estar mais relacionado à menor capacidade desses folículos em produzir estradiol e preparar o útero para a gestação quando altas concentrações de progesterona estão presentes, do que ao diâmetro folicular em si, e novilhas que manifestaram cio nesse estudo suportam essa teoria, já que quando mostram cio o efeito do diâmetro folicular na taxa de concepção é minimizado.

Os efeitos prejudiciais da alta concentração de progesterona no final do protocolo em fêmeas Nelore cíclicas foram demonstrados nesse estudo e são necessárias investigações com fêmeas mestiças e taurinas de corte cíclicas para verificar se esse efeito também ocorre nesses grupos genéticos, ou se pode ser uma particularidade das raças zebuínas essa maior sensibilidade a progesterona.

O objetivo da pecuária deve ser a busca pela maior lucratividade e nesse contexto, a inseminação artificial permite incorporar genética de qualidade, maximizando a produtividade do sistema de cria. As implicações práticas desse estudo são que algumas alterações de manejo são importantes para melhorar as taxas de prenhez à IATF quando fêmeas cíclicas são sincronizadas:

1 – Novilhas Ciclando: deve-se aplicar 200 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona. Dados da literatura verificaram que somente a antecipação da aplicação da prostaglandina no dia 7 não é suficiente para baixar a concentração de progesterona a um nível que não prejudique o desenvolvimento folicular e as taxas de prenhez dessa categoria. Portanto, a indicação de pelo menos 200 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona é sugerida para melhorar a taxa de prenhez à IATF em novilhas.

2 – Vacas solteiras: deve-se antecipar a aplicação de prostaglandina para o dia 7 ou aplicar 300 UI de eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona.

3 – Vacas paridas cíclicas: deve-se antecipar a aplicação de prostaglandina para o dia 7. O avaliador deve ter bom senso ao analisar lotes de vacas paridas que serão sincronizadas, pois caso grande parte dos animais do lote apresentem dias pós-parto baixo (até 50 dias de parida), a porcentagem de vacas cíclicas provavelmente é baixo e, portanto, não é indicado mais um manejo para aplicação de prostaglandina. Porém, em vacas com excelente escore de condição corporal e/ou dias pós-parto maior deve-se antecipar a aplicação de prostaglandina.

Fêmeas cíclicas podem ter bons resultados à IATF, mas estratégias devem ser consideradas para diminuir a concentração de P_4 no final do protocolo e/ou aumentar o diâmetro do folículo no momento da IATF. O conhecimento mais aprofundado da fisiologia dos animais permitirá maximizar o número de vacas prenhes de inseminação. Nesse contexto, novos estudos se fazem necessários para evidenciar os mecanismos endócrinos da concentração de progesterona durante protocolos de IATF em fêmeas zebuínas cíclicas.