



MIGUEL PIZZOLANTE BOTTINO

**ADIÇÃO DE GONADOTROFINAS EM
PROTOCOLOS DE IATF E FERTILIDADE DE
*VACAS *Bos indicus****

LAVRAS – MG

2014

MIGUEL PIZZOLANTE BOTTINO

**ADIÇÃO DE GONADOTROFINAS EM PROTOCOLOS DE IATF E
FERTILIDADE DE VACAS *Bos indicus***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. José Nélio de Sousa Sales

Coorientador

Dr. José Camisão de Souza

LAVRAS – MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Bottino, Miguel Pizzolante.

Adição de gonadrofinas em protocolos de IATF e fertilidade de vacas *Bos indicus* / Miguel Pizzolante Bottino. – Lavras : UFLA, 2014.

55 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: José Nélio de Sousa Sales.

Bibliografia.

1. Sincronização. 2. Categoria animal. 3. FSH. 4. eCG. 5. Zebu.
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.208245

MIGUEL PIZZOLANTE BOTTINO

**ADIÇÃO DE GONADOTROFINAS EM PROTOCOLOS DE IATF E
FERTILIDADE DE VACAS *Bos indicus***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 29 de outubro de 2014.

Dr. João Bosco Barreto Filho	UFLA
Dr. José Camisão de Souza	UFLA
Dr. Miller Pereira Palhão	UNIFENAS

Dr. José Nélio de Sousa Sales
Orientador

LAVRAS MG

2014

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha Mãe, por saber sempre de tudo, pelos conselhos certos, nas horas certas, por todo amor depositado. Ao meu Pai, pela infinita inteligência e bom senso, capaz de solucionar qualquer problema, perceber as diferentes possibilidades, passar a impressão de que tudo pode ser mais fácil do que parece. A minha Irmã, pelas mais criativas formas de demonstrar carinho, pelo companheirismo infinito, pelas lembranças compartilhadas.

Aos meus Avós, sou grato pela tradição, a minha avó Yeda que sempre me ensinou o valor dos detalhes e da estrutura familiar, ao meu avô João (*in memoriam*) pela educação e disciplina que irão sempre me guiar. Ao meu Avô Adalberto e minha Avó Célia (*in memoriam*).

Ao meu Tio Breno que, desde sempre, me fez um Veterinário, agradeço pela extrema confiança depositada, pelas histórias, pelos ensinamentos, pelo carinho e atenção que sempre me proporcionou. A minha Tia, Helena, agradeço pelos conselhos e carinho eterno e ao meu Tio, Rômulo, por me ensinar o valor da cultura, do pensamento e do conhecimento. Agradeço, também, a minha Tia-avó (Leda), pelo apoio sempre tão positivo e divertido.

A minha Lisânia, pela eterna demonstração de amor e cumplicidade, pelo carinho, por estar ao meu lado nos momentos certos, sempre com o toque mais perfeito de dedicação e atenção.

Agradeço aos Amigos-irmãos lavrenses, pelo companheirismo infinito, que não se abala com nenhuma das mais diversas barreiras da vida e aos da Veterinária, pelas incríveis lembranças da melhor época por mim já vivida!

Agradeço aos grandes Mestres que tive, pois me ensinaram mais do que a profissão, mas, sim, a ser um profissional.

À Universidade Federal de Lavras e à CAPES, pelas oportunidades de pesquisa e aprendizado. Agradeço a Deus e, por fim, aos meus sempre fiéis amigos animais.

RESUMO

Atualmente, a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) pode ser aplicada, rotineiramente, aos programas reprodutivos. Protocolos de IATF são projetados para promover o controle das funções lútea e folicular, o que resulta em taxas satisfatórias de concepção. Uma variedade de protocolos foi projetada de acordo com as características e necessidades de diferentes grupos genéticos, categoria animal e manejo. Recentemente, são utilizados protocolos à base de GnRH/PGF2 α ou estradiol/progesterona. Os programas de IATF são importantes ferramentas de manejo reprodutivo para melhorar o desempenho produtivo e reprodutivo de bovinos de leite e de corte. Assim, a incorporação correta desses programas, dentro da pecuária, aumenta a eficiência reprodutiva dos animais e, de forma concomitante, a produtividade e o retorno econômico ao pecuarista.

Palavras-chave: IATF. Sincronização. Categoria animal. Gonadotrofina.

ABSTRACT

Currently, Timed Artificial Insemination (TAI) can be routinely applied in reproductive programs. TAI protocols are projected to promote the control of luteal and follicular functions, which results in satisfactory conception rates. A variety of protocols was projected according to characteristics and needs of different genetic groups, animal category and management. Recently, GnRH/PGF2 α or estradiol/progesterone based protocols are used. The TAI programs are important reproductive management tools to improve productive and reproductive performance of dairy and beef cattle. Therefore, the correct incorporation of these programs, inside cattle breeding, increases the reproductive efficiency of the animals and, concurrently, productivity and economic return for the pastoralist.

Keywords: TAI. Synchronization. Animal category. Gonadotropin.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Efeito do tratamento com FSH ou eCG sobre a dinâmica folicular de vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF a base de E2/P4 (mm).	52
Tabela 2	Dinâmica folicular de vacas Nelore tratadas com FSH ou eCG e das diferentes categorias animais, submetidas a protocolo de sincronização da ovulação a base de E2/P4 (mm).....	53
Tabela 3	Efeito do tratamento com FSH ou eCG nas taxas de cio e prenhez de vacas primíparas e pluríparas da raça Nelore submetidas a protocolo de IATF a base de E2/P4 (%).	54

LISTA DE ABREVIATURAS

AIC	Akaike's An Information Criterion
BE	Benzoato de estradiol
CF	Crescimento folicular
CL	Corpo lúteo
D	Dia
DMFD	Diâmetro máximo do folículo dominante
DMFO	Diâmetro máximo do folículo ovulatório
DR	Diâmetro do folículo dominante no momento da retirada do dispositivo de progesterona
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
CE	Cipionato de estradiol
EPM	Erro padrão da média
FSH	Hormônio folículo estimulante
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofinas
i.m.	Intra muscular
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
LH	Hormônio luteinizante
MOV	Momento da ovulação
N	Número
P	Probabilidade
P4	Progesterona
PGF2 α	Prostaglandina 2 α
SAS	Statistical Analysis System
TO	Taxa de ovulação
UI	Unidades internacionais

US

Vs

Ultrassom

Versus

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
B	Beta
A	Alfa
H	Hora
~	Aproximadamente
Mm	Milímetro
MG	Miligrama
µg	Micrograma
ml	Mililitro
MHz	Mega-hertz
±	Mais ou menos
>	Maior
<	Menor
®	Marca registrada
Ø	Diâmetro

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE	
1	INTRODUÇÃO 13
2	REFERENCIAL TEÓRICO 16
2.1	Inseminação artificial em tempo fixo 16
2.2	Gonadotrofina coriônica equina 17
2.3	Hormônio folículo estimulante 19
2.4	Escore de condição corporal 20
2.5	Categoria animal - primíparas 21
2.6	Expressão de estro 22
	REFERÊNCIAS 24
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO 33
	ARTIGO Efeito da suplementação com gonadotrofinas no crescimento final do folículo e na fertilidade de vacas <i>Bos indicus</i> submetidas à IATF 33

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a seleção de animais em rebanhos zebuínos (*Bos indicus*) tem como base fatores diretamente ligados à produção, como ganho de peso, crescimento corporal, conversão alimentar. Porém, os indicadores de fertilidade do rebanho que traduzem a eficiência reprodutiva dos animais são de grande importância para o sucesso econômico da atividade (AONO et al., 2013; QUIRINO et al., 2004). Assim, é importante a incorporação de programas reprodutivos, para otimizar a eficiência reprodutiva de rebanhos leiteiros e de corte (BARUSELLI et al., 2012). A inseminação artificial é capaz de promover ganhos genéticos e econômicos, uma vez que faz uso de reprodutores de genética superior (BARUSELLI et al., 2012). No entanto, vacas de origem zebuína (*Bos indicus*) possuem longo período de anestro pós-parto, estro de curta duração e alta incidência de estro no período noturno, o que impacta em baixa eficiência, quando tal biotecnologia da reprodução é empregada isoladamente (SÁ FILHO et al., 2009b).

Para evitar os problemas associados à utilização da detecção do estro, estudos foram desenvolvidos na tentativa de propor estratégias para que a inseminação artificial fosse realizada em momento pré-determinado, eliminando, assim, a necessidade da detecção do estro (BARUSELLI et al., 2012). Pursley, Mee e Wiltbank (1995) descreveram os primeiros resultados advindos da prática da sincronização do estro pelo uso do protocolo Ovsynch, à base de GnRH e PGF2 α . Desde então, inúmeros protocolos foram desenvolvidos na tentativa de controlar a dinâmica folicular, o que permitiu que a IATF aumentasse as taxas de concepção e prenhez (BARUSELLI et al., 2012).

A administração de GnRH é capaz de induzir a ovulação e, posteriormente, a emergência de uma nova onda folicular (MACMILLAN; THATCHER, 1991). No entanto, tal indução é influenciada pelo estágio do ciclo estral, no momento da administração desse hormônio (WILTBANK et al., 2011). Sendo assim, os protocolos de IATF à base de GnRH estão, geralmente, associados a resultados inconsistentes em rebanhos de corte, principalmente pelo grau de anestro observado em *Bos indicus*, que os impossibilita de sincronizar de modo eficiente a emergência de uma nova onda folicular (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003; GEARY et al., 1998).

Em protocolos à base de estradiol e progesterona, revisado por Bó et al. (2002), a administração simultânea desses hormônios inibe o crescimento do folículo dominante. O mecanismo responsável por tal supressão está, aparentemente, envolvido com a diminuição sérica de FSH (BÓ et al., 1996, 2002) e LH (BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996), em decorrência do bloqueio da liberação de GnRH no hipotálamo. A administração de 17- β estradiol ou benzoato de estradiol (BÓ et al., 2002) em animais que receberam progesterona exógena, em momento aleatório do ciclo estral, promoveu a sincronização da emergência de uma nova onda folicular em, aproximadamente, 4 dias. O próximo passo do protocolo de IATF é suprimir a concentração de progesterona com a administração de prostaglandina para promover a luteólise e a retirada do dispositivo intravaginal ou auricular de progesterona. Em seguida, realiza-se a indução da ovulação, que pode utilizar ésteres de estradiol, GnRH, LH e hCG. O momento da administração dos ésteres de estradiol varia de acordo com as propriedades farmacocinéticas desses compostos, podendo ser administrado no momento da retirada do dispositivo de progesterona ou 24 horas após, para induzir o pico de LH de forma sincronizada (aproximadamente 16 a 24 horas após o tratamento com benzoato de estradiol) e, conseqüentemente,

ovulação em aproximadamente 24 a 32 horas, após o pico de LH (HANLON et al., 1997; MARTÍNEZ et al., 2005).

Em *Bos indicus*, geralmente as vacas permanecem por longo período de anestro. Nessas vacas, os pulsos de liberação de LH são insuficientes para promover o desenvolvimento final do folículo dominante, o que limita a eficiência dos protocolos tradicionais de IATF (BARUSELLI et al., 2004). O tratamento com gonadotrofinas exógenas intensifica o crescimento final do folículo dominante. Assim, conduziu-se, esta revisão, com o objetivo de avaliar a influência do uso de diferentes gonadotrofinas (FSH e eCG) sobre a eficiência de protocolos de IATF em vacas Nelore (*Bos indicus*).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Inseminação artificial em tempo fixo

Os programas de IATF são amplamente utilizados, em razão da capacidade de aumentar o número de fêmeas artificialmente inseminadas, sem que haja a necessidade de detecção de estro (SÁ FILHO et al., 2011b). A sincronização dos ciclos estrais permite o encurtamento da estação reprodutiva, maior uniformidade dos bezerros e maior facilidade do uso da inseminação artificial. Tal técnica possibilita a introdução de genética superior no rebanho, com custo inferior à aquisição de reprodutores com alto padrão genético (LAMB et al., 2010).

Inicialmente, protocolos de sincronização utilizavam prostaglandina para promover a regressão do corpo lúteo e posterior detecção de estro, 2 a 6 dias após a administração. Posteriormente, a inclusão de progestágenos exógenos passou a ser considerada, com o intuito de atrasar o início do estro, após luteólise espontânea ou induzida (LUCY et al., 2001). Como nos bovinos, os folículos ovarianos crescem em padrão de ondas com a presença de um folículo dominante (FORTUNE; SIROIS; QUIRK, 1988), os protocolos de sincronização passaram a considerar o controle folicular pela administração do GnRH, para induzir pico de LH e posterior ovulação ou luteinização do folículo dominante (≥ 10 mm) (SARTORI et al., 2001). Conseqüentemente, uma nova onda folicular é iniciada 1,5 a 2 dias após a administração de GnRH em fêmeas, cuja ovulação ocorreu. Após a ovulação, o tecido luteal formado é responsivo à luteólise induzida pela $PGF_{2\alpha}$, 6 ou 7 dias após a ovulação (TWAGIRAMUNGU; GUILBAULT; DUFOUR, 1995).

O 17β -estradiol (17β -E2) ou um de seus ésteres (benzoato e valerato), tem sido utilizado com sucesso na sincronização da emergência de uma nova

onda folicular, quando associado à progesterona, por induzir a regressão folicular. Após essa associação, uma nova onda folicular inicia-se entre o 3º e 4º dia (CACCIA; BÓ, 1998). Após o crescimento folicular e queda da progesterona sérica (por administração da $PGF_{2\alpha}$ e retirada do dispositivo de progesterona), realiza-se a indução da ovulação, para que as fêmeas ovulem de forma sincronizada. Para tal, o cipionato de estradiol (CE) tem sido utilizado em larga escala nos protocolos de IATF em vacas zebuínas (*Bos indicus*) (MENEGHETTI et al., 2009; PERES et al., 2009), uma vez que é capaz de induzir a ovulação em, aproximadamente, 80% das fêmeas tratadas (SALES et al., 2012).

O uso de gonadotrofinas apresenta benefícios quando associado aos protocolos de sincronização de estro e da ovulação (DUFFY et al., 2004). Alguns estudos demonstraram que a administração da eCG aumenta a incidência de ovulação em vacas com comprometimento do escore de condição corporal, uma vez que a eCG é capaz de estimular o crescimento final do folículo dominante, ligando-se a receptores de LH e FSH (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003).

2.2 Gonadotrofina coriônica equina

A eCG é uma glicoproteína sintetizada, a partir dos cálices endometriais de éguas gestantes e tem a função de induzir a formação de CLs acessórios e luteinização de folículos (MURPHY; MARTINUK, 1991). A produção de eCG coincide com a migração de células coriônicas especializadas para o endométrio. Após a migração, ocorre uma reação inflamatória formando os cálices endometriais. Em geral, o pico de produção dessa glicoproteína ocorre entre os dias 55 e 70 da gestação. A concentração desse hormônio declina, gradativamente, até, aproximadamente, 130 dias de gestação. Porém, existe

variação individual na produção desse hormônio (MURPHY; MARTINUK, 1991).

A eCG é o hormônio mais glicosilado dentre os hormônios glicoproteicos pituitários e placentários, pois, grande parte de sua massa (45%) é composta por carboidratos, principalmente o ácido siálico, primordialmente presente na subunidade β de sua molécula, o que proporciona uma meia vida longa a esse composto (MURPHY; MARTINUK, 1991). Além de possuir alto peso molecular (subunidade α composta por 96 aminoácidos e subunidade β composta por 149 aminoácidos) e ácido siálico, a molécula de eCG é carregada negativamente, o que dificulta sua filtração glomerular, aumentando mais sua meia vida (BARUSELLI et al., 2008). A subunidade α dos hormônios glicoproteicos LH e FSH são iguais, sendo que a eCG é dotada dessa mesma subunidade α das glicoproteínas pituitárias (PIERCE; PARSONS, 1981).

Em determinadas situações nutricionais, ou em condições fisiológicas desfavoráveis, como, por exemplo, animais com baixo escore corporal, vacas primíparas ou com reduzido período pós-parto, a IATF pode apresentar resultados inconsistentes (BARUSELLI et al., 2008). Nessas situações, o uso da eCG, no momento da retirada do dispositivo de progesterona, mostra-se interessante, proporcionando aumento no crescimento final do folículo dominante e maior taxa de ovulação e de concepção em raças zebuínas de corte (BARUSELLI et al., 2004; BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003; PERES et al., 2009; SALES et al., 2011). Isso ocorre em função das características fisiológicas dessa gonadotrofina, como em razão do componente siálico no processo de glicosilação (MURPHY; MARTINUK, 1991) e sua capacidade em se ligar tanto aos receptores de FSH quanto de LH (BARUSELLI et al., 2004; SOUMANO; PRICE, 1997). A eCG também é capaz de estimular células da teca e da granulosa no folículo dominante (CAMERON; BATT, 1991; KURAN; HUTCHINSON; BROADBENT, 1996), elevando a secreção de progesterona

pelo recém-formado CL (BARUSELLI et al., 2004), promovendo um ambiente uterino e endócrino mais adequado para o embrião no início do período diéstrico (PERES et al., 2009).

2.3 Hormônio folículo estimulante

O FSH é um hormônio glicoproteico, constituído por duas cadeias polipeptídicas denominadas de subunidades α e β (DEMOUSTIER; BECKERS; CLOSSET, 1988) com papel essencial no âmbito reprodutivo (ROSE et al., 2000). Essa glicoproteína promove o recrutamento folicular, formação do antro folicular, crescimento inicial do folículo terciário, regulação da esteroidogênese nas células da granulosa e regulação da morte programada nessas mesmas células (BODENSTEINER et al., 1996; RIAZ et al., 2014). Além disso, o FSH tem sido utilizado como indutor de crescimento folicular em protocolos de IATF, uma vez que existem receptores para essa gonadotrofina nas células da granulosa, após a divergência folicular (FORTUNE et al., 2001). A utilização em protocolos de superovulação está bem estabelecida tanto em vacas *Bos taurus* (BÓ et al., 2006; SALES et al., 2008) quanto vacas *Bos indicus* (BARUSELLI et al., 2006). No entanto, em protocolos de IATF sua ação ainda não foi bem estabelecida. Santos et al. (2007a) observaram que 10 - 20 mg de FSH aumenta a fertilidade de vacas zebuínas submetidas à IATF. Santos et al. (2007b) demonstraram que suplementação com 10 mg de FSH, no momento da retirada do dispositivo de progesterona, promoveu resposta similar a administração de eCG, em relação a porcentagem de vacas que ovularam. Em contraste, Lima et al. (2010) e Meneghetti et al. (2009) relataram que a suplementação com FSH, no momento da retirada do dispositivo de progesterona, apresentou menor taxa de concepção quando comparado ao tratamento com eCG ou remoção dos bezerras. Tal inconsistência de resultados

pode estar relacionada com a menor duração desse hormônio na corrente sanguínea, cuja meia-vida é de 5 horas, aproximadamente (DEMOUSTIER; BECKERS; CLOSSET, 1988).

2.4 Escore de condição corporal

Uma importante fonte de perda econômica em rebanhos bovinos de corte é o aumento do intervalo de partos, em resposta ao estresse nutricional, geralmente relacionado ao elevado gasto energético na lactação (YAVAS; WALTON, 2000) e à baixa disponibilidade de alimento para vacas *Bos indicus* criadas de forma extensiva. Em condições de déficit nutricional, ocorre redução na liberação de GnRH e, conseqüentemente, os pulsos de LH (LI; WAGNER, 1983). Tal condição resulta em ondas foliculares sem demonstração de estro ou mesmo com ausência de ovulação (BASTOS et al., 2004). O ECC pode ser usado como indicador do estado energético de um animal (DEROUEN et al., 1994), apresentando-se como método acurado e de alta repetibilidade, para a estimativa das reservas corporais de gordura em raças bovinas de corte, mostrando-se útil na evidência dos indivíduos despreparados para a reprodução (VIZCARRA et al., 1998; WAGNER et al., 1988). Em uma escala de 1 – 5 (AYRES et al., 2009), sendo 1 o indivíduo magro e 5 um animal obeso, indica-se 2,5 como o escore mínimo para uma resposta bem sucedida em protocolos de IATF direcionados a vacas *Bos indicus* (BARUSELLI et al., 2004; CUTAIA et al., 2003).

O manejo nutricional adequado dos animais e a intervenção hormonal podem ser considerados como alternativas para minimizar os efeitos negativos na reprodução (taxas de ovulação e concepção) promovidas pelo baixo ECC do rebanho, durante o período pós-parto (RIVERA et al., 1998). Dentre essas alternativas, destaca-se o desmame temporário (SHIVELY; WILLIAMS, 1989),

a administração exógena de análogos do GnRH (WETTEMANN et al., 1982), a administração exógena de estrógeno (GARCIA-WINDER; LEWIS; INSKEEP, 1988; SAIDUDDIN; QUEVEDO; FOOTE, 1968) e a administração de gonadotrofinas, como a eCG ou o FSH (SALES et al., 2011).

2.5 Categoria animal - primíparas

O período de anestro pós- parto em vacas zebuínas é um desafio para a obtenção de alta eficiência reprodutiva, uma vez que possui maior duração em relação ao de vacas *Bos taurus* (VASCONCELOS et al., 2009). Além disso, o estro de vacas *Bos indicus* é mais curto, quando comparado ao de vacas taurinas, o que reduz os índices reprodutivos nesse grupo genético (PINHEIRO et al., 1998).

Esses desafios são, ainda, mais importantes em vacas primíparas submetidas a pastejo extensivo, pois nessas condições, a ingestão de nutrientes no período pós-parto não é suficiente para atender às exigências metabólicas de crescimento corporal somadas à lactação, o que leva essa categoria a um anestro pós-parto ainda mais prolongado (SÁ FILHO, O. et al., 2010).

Em vacas em anestro, o tratamento com progesterona aumenta a secreção de LH (GARCIA-WINDER et al., 1987), que é importante para a retomada da ciclicidade ovariana após o parto (SÁ FILHO; THATCHER; VASCONCELOS, 2009). Tal ação da progesterona resulta em elevação nas concentrações intrafolicular e circulante de estradiol e no número de receptores de LH nas células da granulosa e da teca em folículos pré-ovulatórios (GARCIA-WINDER et al., 1987; RHODES et al., 2002). Uma forma de aumentar o desempenho de primíparas em protocolos de IATF é antecipar o momento de realização do manejo hormonal. Normalmente, vacas zebuínas ou taurinas atingem seu pico de lactação, entre 9 e 11 semanas após o parto, já, em

vacas primíparas, existe tendência de que esse pico de produção seja mais tardio (OLIVEIRA et al., 2007). Portanto, é possível que haja elevação na taxa de fertilidade de primíparas submetidas a protocolos de IATF, uma vez que a sincronização do estro se inicie antes do período de máxima exigência nutricional, relacionada à produção de leite (SÁ FILHO, M. et al., 2010).

2.6 Expressão de estro

O fenômeno da expressão do estro ocorre pela ação do estradiol nos centros do comportamento localizados no hipotálamo de mamíferos (ROELOFS et al., 2010). O início do comportamento de estro tem sido associado ao pico, na concentração sérica de estradiol (SÁ FILHO et al., 2011a). Tal elevação na concentração de estradiol, seja ela endógena ou exógena, no momento da inseminação, influencia o transporte do espermatozoide e a manutenção da viabilidade espermática até o momento da fertilização, por mudanças no ambiente uterino (HAWK, 1983). Além disso, concentrações subótimas de estradiol podem resultar em luteólise prematura no ciclo estral subsequente (MANN; LAMMING, 2000), diminuindo a taxa de sobrevivência embrionária (SANTOS et al., 2004). Como forma de elevação exógena nas concentrações de estradiol, o benzoato de estradiol é utilizado como indutor da ovulação (DISKIN; AUSTIN; ROCHE, 2002). No entanto, o cipionato de estradiol é uma alternativa interessante para a indução da ovulação, uma vez que possui baixo custo por dose e pode ser administrado, simultaneamente, à retirada do dispositivo de progesterona. Isso reduz o número de manejos no rebanho sem que haja prejuízo na eficiência da sincronização do ciclo estral (MENEGHETTI et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2009a; SÁ FILHO, M. et al., 2010).

Segundo Sá Filho et al. (2011b), em vacas submetidas à protocolos de IATF, a expressão de estro entre o dia da retirada do dispositivo de progesterona

e o momento da inseminação em tempo fixo resulta em maior taxa de concepção. Nesse estudo, vacas que expressaram estro após a retirada do dispositivo de progesterona tiveram maior chance (3,3 vezes) de se tornarem gestantes em relação àquelas que não expressaram estro. Além disso, os autores verificaram que as vacas que demonstraram estro apresentaram folículo dominante com maior diâmetro no momento da retirada do dispositivo de progesterona e, no momento da inseminação, maior taxa de ovulação, maior funcionalidade do corpo lúteo subsequente, mensurada pela concentração plasmática de progesterona, e maior taxa de concepção.

REFERÊNCIAS

AONO, F. H. et al. Effects of vaccination against reproductive diseases on reproductive performance of beef cows submitted to fixed-timed AI in Brazilian cow-calf operations. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 79, n. 2, p. 242-248, Jan. 2013.

AYRES, H. et al. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, New York, v. 123, n. 2/3, p. 175-179, Aug. 2009.

BARUSELLI, P. S. et al. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, Edinburgh, v. 9, n. 3, p. 139-152, 2012.

BARUSELLI, P. S. et al. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3., 2008, Londrina. **Proceedings...** Londrina: Geraembryo Reprodução Bovina, 2008. p. 146-167.

BARUSELLI, P. S. et al. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 65, n. 1, p. 77-88, Jan. 2006.

BARUSELLI, P. S. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82/83, p. 479-486, July 2004.

BASTOS, G. M. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 62, n. 5, p. 847-853, Sept. 2004.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 78, n. 3/4, p. 307-326, Oct. 2003.

BÓ, G. A. et al. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 57, n. 1, p. 53-72, Jan. 2002.

BÓ, G. A. et al. Effect of progestogen plus estradiol-17B treatment on superovulatory response in beef cattle. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 45, n. 96, p. 897-910, 1996.

BÓ, G. A. et al. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 65, n. 1, p. 89-101, Jan. 2006.

BODENSTEINER, K. J. et al. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 45, n. 6, p. 1115-1128, Apr. 1996.

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**, Amsterdam, v. 45, n. 96, p. 13-28, 1996.

CACCIA, M.; BÓ, G. A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 49, p. 34, 1998. Abstract.

CAMERON, A. W. N.; BATT, P. A. PMSG may directly stimulate ovulation in female goats. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 25, n. 3, p. 233-239, July 1991.

CUTAIA, L. et al. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Theriogenology**, Los Angeles, v. 59, p. 216, 2003. Abstract.

DEMOUSTIER, M. M.; BECKERS, J.; CLOSSET, P. V. D. Z. J. Determination of porcine plasma follitropin levels during treatment in cows. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 30, n. 2, p. 379-386, 1988.

DEROUEN, S. M. et al. Humes and B B Greene prepartum body condition and weight influences on reproductive performance of first-calf beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, n. 5, p. 1119-1125, May 1994.

DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 23, n. 1/2, p. 211-228, July 2002.

DUFFY, P. et al. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 61, n. 4, p. 725-734, Feb. 2004.

FORTUNE, J. E. et al. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 65, n. 3, p. 648-654, Sept. 2001.

FORTUNE, J. E.; SIROIS, J.; QUIRK, S. M. The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 29, n. 1, p. 95-109, 1988.

GARCIA-WINDER, M. et al. Effects of norgestomet on follicular development in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, p. 1099-1109, 1987.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K. Ovulation in postpartum beef cows treated with estradiol. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, p. 1-4, 1988.

GEARY, T. W. et al. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate-B or the Ovsynch protocol. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 6, p. 1523-1527, June 1998.

HANLON, D. W. et al. Ovulatory responses and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 47, n. 5, p. 963-975, Apr. 1997.

HAWK, H. W. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 66, p. 2645-2660, 1983.

KURAN, M.; HUTCHINSON, J. S. M.; BROADBENT, P. J. The response of bovine granulosa cells to different gonadotrophins in culture. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 45, n. 1/2, p. 1-12, Dec. 1996.

LAMB, G. C. et al. Control of the estrous cycle to improve fertility for fixed-time artificial insemination in beef cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 88, n. 13, p. E181-192, Apr. 2010. Supplement.

LI, P. S.; WAGNER, W. C. In vivo and In vitro studies on the effect of adrenocorticotrophic hormone or cortisol on the pituitary to gonadotropin releasing hormone. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 29, p. 25-37, 1983.

LIMA, L. A. et al. Addition of FSH, in contrast to eCG, does not increase pregnancy rates in anestrous Nellore (*Bos indicus*) cows treated with fixed-time AI protocol. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 22, p. 170, 2010. Abstract.

LUCY, M. C. et al. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2alpha for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, n. 4, p. 982-995, Apr. 2001.

MACMILLAN, K. L.; THATCHER, W. W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 45, n. 6, p. 883-889, Dec. 1991.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 64, n. 3/4, p. 171-180, Dec. 2000.

MARTÍNEZ, M. F. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 86, n. 1/2, p. 37-52, Mar. 2005.

MENEGHETTI, M. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 72, n. 2, p. 179-189, July 2009.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 12, n. 1, p. 27-44, Feb. 1991.

OLIVEIRA, V. C. de et al. Milk production and performance of calves from Nellore and crossbred cows. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, n. 6, p. 2074 -2081, nov./dez. 2007.

PERES, R. F. G. et al. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 72, n. 5, p. 681-689, Sept. 2009.

PIERCE, J. G.; PARSONS, T. F. Glycoprotein hormones: structure and function. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 50, p. 465-495, 1981.

PINHEIRO, O. L. et al. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 55, n. 14, p. 667-681, 1998.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2a and GnRH. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 44, n. 7, p. 915-923, Nov. 1995.

QUIRINO, C. R. et al. Genetic parameters of libido in Brazilian Nelore bulls. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 62, n. 1/2, p. 1-7, July 2004.

RHODES, F. M. et al. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 69, n. 3/4, p. 139-150, Feb. 2002.

RIAZ, H. et al. Constitutive and follicle-stimulating hormone-induced action of somatostatin receptor-2 on regulation of apoptosis and steroidogenesis in bovine granulosa cells. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 141, p. 150-159, May 2014.

RIVERA, G. M. et al. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 49, n. 7, p. 1365-1375, May 1998.

ROELOFS, J. et al. When is a cow in estrus?:clinical and practical aspects. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 74, n. 3, p. 327-344, Aug. 2010.

ROSE, M. P. et al. Definition and measurement of follicle stimulating hormone. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 21, n. 1, p. 5-22, 2000.

SÁ FILHO, M. F. et al. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 76, n. 3, p. 455-463, Aug. 2011a.

SÁ FILHO, M. F. et al. Induction of ovarian follicular wave emergence and ovulation in progestin-based timed artificial insemination protocols for *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 129, n. 3/4, p. 132-139, Dec. 2011b.

SÁ FILHO, M. F. et al. Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 120, n. 1/4, p. 23-30, July 2010.

SÁ FILHO, O. G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 72, n. 2, p. 210-218, July 2009a.

SÁ FILHO, O. G. et al. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous *Bos indicus* beef cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 119, n. 1/2, p. 9-16, May 2010.

SÁ FILHO, O. G. et al. Strategies to improve fertility in postpartum multiparous *Bos indicus* cows submitted to a fixed-time insemination protocol with gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2alpha. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 87, n. 9, p. 2806-2814, Sept. 2009b.

SÁ FILHO, O. G.; THATCHER, W. W.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 112, n. 1/2, p. 95-106, May 2009.

SAIDUDDIN, S.; QUEVEDO, M. M.; FOOTE, W. D. Response of beef cows to exogenous progesterone and estradiol at various stages postpartum. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 27, p. 1015-1020, 1968.

SALES, J. N. S. et al. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 78, n. 3, p. 510-516, Aug. 2012.

SALES, J. N. S. et al. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with beta-carotene and tocopherol. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 106, n. 1/2, p. 77-89, June 2008.

SALES, J. N. S. et al. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 124, n. 1/2, p. 12-18, Mar. 2011.

SANTOS, I. C. C. et al. Pregnancy rate in FTAI anestrous *Bos indicus* cows treated with a single dose of FSHp (Folltropin). **Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, p. 1151, 2007a. Abstract.

SANTOS, I. C. C. et al. Study of follicular dynamics in anestrous nelore cows (*Bos indicus*) synchronized with FTAI protocol using folltropin® (FSHp) as follicular growth inductor. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, p. 1152, 2007b. Abstract.

SANTOS, J. E. P. et al. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82/83, p. 513-535, July 2004.

SARTORI, R. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 65, n. 5, p. 1403-1409, Nov. 2001.

SHIVELY, T. E.; WILLIAMS, G. L. Patterns of tonic luteinizing hormone release and ovulation frequency in suckled anestrous beef cows following varying intervals of temporary weaning. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 6, n. 4, p. 379-387, Oct. 1989.

SOUMANO, K.; PRICE, C. A. Ovarian follicular steroidogenic acute regulatory protein, low-density lipoprotein receptor, and cytochrome P450 side-chain cleavage messenger ribonucleic acids in cattle undergoing superovulation. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 522, n. 56, p. 516-522, 1997.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L. A.; DUFOUR, J. J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, n. 10, p. 3141-3151, Oct. 1995.

VASCONCELOS, J. L. M. et al. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrous crossbred Angus x Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 111, n. 2/4, p. 302-311, Apr. 2009.

VIZCARRA, J. A. et al. Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin, and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 4, p. 927-936, Apr. 1998.

WAGNER, J. J. et al. Carcass composition in mature Hereford cows: estimation and effect on daily metabolizable energy requirement during winter. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 66, n. 3, p. 603-612, Mar. 1988.

WETTEMANN, R. P. et al. Endocrine response of postpartum anestrous beef cows to GnRH or PMSG. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 18, n. 5, p. 599-613, 1982.

WILTBANK, M. C. et al. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 76, n. 9, p. 1568-1582, Dec. 2011.

YAVAS, Y.; WALTON, J. S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 54, n. 1, p. 25-55, July 2000.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

ARTIGO **Efeito da suplementação com gonadotrofinas no crescimento final do folículo e na fertilidade de vacas *Bos indicus* submetidas à IATF**

Artigo formatado segundo as normas da *Theriogenology*.

Resumo

Com o objetivo de verificar o uso de eCG e FSH em protocolos de IATF, três experimentos foram realizados para avaliar o crescimento final do folículo dominante e taxa de ovulação (Experimento 1), a demonstração de estro (Experimento 3) e a taxa de concepção (Experimentos 2 e 3) em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas à protocolo de IATF. No Experimento 1, as vacas (n=52) receberam um protocolo de sincronização a base de progesterona e estradiol (D0, progesterona + 2mg benzoato de estradiol, D8, retirada da progesterona + 500µg cloprostenol + 1mg cipionato de estradiol. No D8, os animais foram distribuídos em 3 tratamentos: grupo eCG (n=18), as vacas receberam i.m. 300 UI de eCG (Folligon®, Intervet, Holanda), grupo FSH (n=16), as vacas receberam i.m. 10mg de FSH (Folltropin®, Bioniche, Canadá) e grupo Controle (n=18), as vacas receberam 1,5ml de solução salina. Exames ultrassonográficos foram realizados a cada 12 horas por 96 horas ou até a ovulação. No Experimento 2, vacas Nelore (n=938) foram submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação do Experimento 1 e o delineamento experimental foi o mesmo [grupo Controle (n=307), grupo FSH (n=296) e grupo eCG (n=335)]. Após os tratamentos, todas as vacas foram submetidas à inseminação artificial 48 horas após a retirada do implante de progesterona e o diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF. A expressão do estro foi avaliada com auxílio de marcação com bastão de cera sobre a região do osso sacro no D8, sendo que as vacas que não mais apresentavam marcação no D10 foram consideradas como indivíduos que apresentaram estro. No Experimento 3, as vacas (n=603) foram submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação do Experimento 1 e o delineamento experimental foi semelhante, porém, somente dois tratamentos foram realizados [grupo controle (n=315) e grupo eCG (n=288)]. Exame

ultrassonográfico foi realizado 30 dias após a inseminação artificial para verificar a taxa de prenhez. Em todos os experimentos, a análise estatística foi realizada com o auxílio do SAS e utilizou-se o procedimento GLIMMIX. No experimento 1, não houve diferença estatística entre os tratamentos nas variáveis de dinâmica folicular. No experimento 2, as vacas do grupo eCG apresentaram maior crescimento folicular ($P=0,0001$) e primíparas apresentaram menor diâmetro do folículo dominante no D8 ($P=0,0001$) e no D10 ($P=0,0001$) em relação as pluríparas. Na taxa de prenhez, verificou-se interação tratamento e categoria ($P=0,007$). Nas primíparas, as vacas do grupo eCG apresentaram maior taxa de prenhez em relação ao grupo Controle e grupo FSH e em pluríparas, o grupo eCG diferiu somente do grupo Controle para a taxa de prenhez, sendo semelhante entre o grupo FSH e controle. No experimento 3, verificou-se interação tratamento e categoria animal ($P=0,005$) para a taxa de prenhez, em que o tratamento com eCG aumentou ($P=0,001$) a taxa de prenhez tanto em vacas primíparas [Grupo Controle 9,7% (15/154) e Grupo eCG 41,4% (55/133)] quanto em vacas pluríparas [Grupo Controle 37,5% (60/160) e Grupo eCG 49,7% (77/155)]. Porém, a diferença entre os tratamentos foi mais evidente em vacas primíparas. Além disso, as vacas que expressaram estro durante o protocolo apresentaram maior taxa de prenhez [Vacas em estro, 41,1% (153/372) e sem estro 24,6% (50/219)]. Por fim, vacas primíparas [24,4% (70/287)] apresentaram menor taxa de prenhez que vacas pluríparas [43,5% (137/315); $P=0,001$]. Esses resultados indicam que a suplementação com FSH na retirada do dispositivo de progesterona não promoveu resultados semelhantes à eCG no crescimento final do folículo dominante e na taxa de prenhez de vacas de corte submetidas à protocolos de IATF a base de progesterona e estrógeno

Palavras-chave: FSH, eCG, sincronização, zebu.

Abstract

In order to verify the use of eCG and FSH on TAI protocols, three experiments were conducted to evaluate the final growth of the dominant follicle and ovulation rate (Experiment 1), estrus expression (Experiment 3) and conception rate (Experiments 2 and 3) in Nelore (*Bos indicus*) submitted to TAI protocol. In Experiment 1, cows (n=52) received a progesterone (P4)/estradiol-based protocol (D0, P4 + 2mg estradiol benzoate, D8, P4 removal + 500µg cloprostenol + 1mg of estradiol cypionate). On D8, animals were allocated to one of three treatments: eCG group (n=18), cows received 300IU of eCG (Folligon®, Intervet, Netherlands), FSH group (n=16), cows received 10mg of FSH (Folltropin®, Bioniche, Canada) and Control group (n=18) cows received 1.5ml saline. Ultrasound examinations were performed every 12 hours until 96 hours or until ovulation occurred. There was no statistical difference between treatments in the variables studied. On Experiment 2, Nelore cows (n=938) were submitted to a same synchronization of ovulation protocol as in Experiment 1 and experimental design was also the same [Control group (n=307), FSH group (n=296) and eCG group (n=335)]. After treatments, cows were subjected to artificial insemination 48 hours after P4 device removal and ultrasound examinations were performed in all animals 30 days after TAI. Estrus expression was evaluated using a colored wax stick over the sacrum region on D8. Cows that had no wax mark on D10 were considered to be in estrous. On Experiment 3, cows (n=603) were subjected to the same synchronization of ovulation protocol presented on Experiment 1. Experimental design was similar, however, cows were distributed in only two treatments, the [Control group (n=315) and eCG group (n=288)]. Ultrasound examination was performed 30 days after artificial insemination to verify pregnancy rate. In all experiments, statistical analysis was performed by GLIMMIX procedure of SAS. On Experiment 1, no

statistical difference was observed among treatments. On Experiment 2, cows from eCG group showed higher follicular growth ($P=0,0001$) and primiparous showed a smaller dominant follicle diameter at D8 ($P=0,0001$) and D10 ($P=0,0001$) when compared to pluriparous. On pregnancy rate, it was observed a treatment category interaction ($P=0,007$). In primiparous cows, eCG group showed higher pregnancy rate when compared to Control group and FSH group. In pluriparous, eCG group was higher than Control group and similar to FSH group. On Experiment 3, there was a treatment and animal category interaction ($P=0,005$) for pregnancy rate, where treatment with eCG increased ($P=0,001$) pregnancy rate in both primiparous [Control group 9,7% (15/154) and eCG group 41,4% (55/133)] and multiparous cows [Control Group 37,5% (60/160) and eCG group 49,7% (77/155)]. However, difference between treatments was most evident in primiparous cows. In addition, cows that expressed estrus during the protocol had higher pregnancy rates [Cows in estrus, 41,1% (153/372) and without estrus 24,6% (50/219)]. At last, primiparous cows [24,4% (70/287)] had a lower pregnancy rate than multiparous cows [43,5% (137/315); $P=0,001$]. These results indicate that supplementation with FSH at P4 device withdrawal did not cause similar results to eCG on final growth of the dominant follicle and pregnancy rate in beef cows subjected to estrogen/P4-based TAI protocols.

Keywords: FSH, eCG, synchronization, zebu.

Introdução

O clima quente e úmido predominante nas regiões brasileiras voltadas para a pecuária de corte favorece a oferta de pastagens e a criação extensiva de bovinos. Em tais condições, as raças zebuínas (*Bos indicus*) apresentam-se mais adaptadas [1]. Porém, verifica-se que a eficiência reprodutiva no rebanho brasileiro é muito baixa (intervalo de partos médio de 17 meses). Em bovinos de corte busca-se produzir um bezerro por vaca por ano. Isto implica na necessidade de concepção entre 75 e 85 dias após o parto [1]. Atualmente, algumas biotecnologias da reprodução podem ser empregadas na tentativa de alcançar tal índice, como por exemplo, o uso dos protocolos de inseminação em tempo fixo (IATF).

Existem diversos modelos de protocolos de IATF [2], o mais comumente utilizado em gado de corte no Brasil associa benzoato de estradiol (BE) e a progesterona (P4), que inicialmente promove a atresia dos folículos e emergência de uma nova onda folicular [3]. Na sequência, é necessário reduzir a concentração sérica de progesterona pela retirada do estímulo exógeno (remoção do dispositivo de progesterona) e endógeno (administração de prostaglandina para regressão do corpo lúteo)[4]. Por fim, é realizada a indução do crescimento final do folículo dominante e sincronização da ovulação [5]. No entanto, alguns fatores podem interferir nos resultados da IATF, como manejo da fazenda, o touro utilizado e a equipe executora de todos os processos. Assim, para que os protocolos possam alcançar taxas reprodutivas satisfatórias, alguns cuidados devem ser verificados durante a execução do protocolo de IATF[4]. Dentre os principais fatores que possam interferir na eficiência reprodutiva dessa biotecnologia, destacam-se a categoria animal (primípara e plurípara) e a condição corpórea das vacas do rebanho. Tais fatores devem ser observados e estudados, uma vez que animais com baixo escore de condição corporal (ECC)

ou primíparas apresentam comprometimento nas taxas de ovulação e de prenhez [1,5]. Estudos apontam que vacas primíparas geralmente apresentam menor resposta aos protocolos de IATF, provavelmente devido a maior exigência nutricional dessa categoria, pois devem direcionar energia para a lactação e para o crescimento corporal e do embrião [6].

Após a constatação de respostas variáveis entre protocolos similares de IATF, buscou-se a utilização de hormônios que pudessem estabilizar os resultados em protocolos de sincronização. Um desses hormônios utilizado é a gonadotrofina coriônica equina (eCG). Após vários estudos, grande parte da literatura atual indica a administração da eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona para promover o crescimento final do folículo dominante e assim, aumentar as taxas de ovulação e concepção em rebanhos de corte, principalmente em animais com maior comprometimento corporal e primíparas [1,5,7].

De forma alternativa, o FSH é outra gonadotrofina que pode ser empregada na tentativa de promover maior crescimento final do folículo dominante [8]. O mecanismo celular pelo qual o FSH induz tal crescimento folicular é mediado por receptores para FSH nas células da granulosa [9]. Recentemente, a utilização do FSH em protocolos de IATF tem demonstrado resultados controversos (SANTOS et al., 2007a; SANTOS et al., 2007b; LIMA et al., 2010; SALES et al., 2011), apesar da ampla utilização no campo.

A hipótese levantada foi que o FSH apresenta resultados semelhantes a eCG no crescimento final do folículo dominante, taxa de ovulação, demonstração de estro e taxa de concepção de vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas a protocolo de IATF a base de progesterona e estradiol. Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi avaliar o uso do FSH e da eCG no crescimento final do folículo dominante, taxa de ovulação, demonstração de estro e taxa de concepção de vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas a protocolo de IATF.

Material e métodos

*Experimento 1: Dinâmica folicular em vacas *Bos indicus* tratadas com eCG ou FSH*

Animais e local de realização do estudo

O experimento foi conduzido em fazenda comercial localizada no centroeste do Brasil, em novembro de 2012. As fêmeas utilizadas (n=52) pertenciam a raça Nelore (*Bos indicus*), de categoria plurípara, com período pós parto entre 30 e 50 dias, escore de condição corporal (ECC) médio de $2,75 \pm 0,2$ [escala de 1–5; [10]]. Os animais foram mantidos em pastejo contínuo em *Brachiaria brizantha* e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

Desenho experimental

As vacas foram submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação a base de estrógeno e progesterona. Em dia aleatório do ciclo estral (D0), as vacas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (Sincrogest®, Ouro Fino, Brasil) e administrou-se 2mg de benzoato de estradiol i.m. (Estrogin®, Farmavet, Brasil). No D8, o dispositivo de progesterona foi retirado e administrou-se i.m. 500µg de cloprostenol (Sincrocio®, Ouro Fino, Brasil) e 1mg de cipionato de estradiol (ECP®, Pfizer, Brasil). Neste mesmo dia, os animais foram divididos de acordo com o diâmetro do maior folículo em três grupos (Controle, eCG e FSH) de forma equilibrada entre os grupos. Ainda no D8, após a distribuição dos animais entre os tratamentos, as vacas do grupo eCG (n=18) receberam i.m. 300 UI de eCG (Folligon®, Intervet, Holanda), as vacas do grupo FSH (n=16) receberam i.m. 10mg de FSH (Folltropin®, Bioniche,

Canadá) e as vacas do grupo Controle (n=18) receberam 1,5ml de solução salina. O esquema do desenho experimental esta apresentado na figura 1.

Exames ultrassonográficos

Exames ultrassonográficos (US; Chison 600 VET, transdutor linear 5MHz, China) foram realizados no D0 (verificar a ausência de corpo lúteo e, conseqüentemente, de ciclicidade ovariana) e no D8 (equilibrar o diâmetro folicular entre os tratamentos). A partir da retirada (D8), os exames ultrassonográficos foram realizados a cada 12 horas até 96 horas depois ou até ocorrer ovulação nos animais. O momento da ovulação foi determinado pela ausência de folículo dominante em uma avaliação subsequente a sua visualização. Avaliou-se, o diâmetro máximo do folículo dominante (maior diâmetro atingido durante todas as avaliações ultrassonográficas), diâmetro máximo do folículo ovulatório (diâmetro do folículo na avaliação anterior a seu desaparecimento), crescimento folicular final (D8 a ovulação) e taxa de ovulação.

Experimento 2: Taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* tratadas com eCG ou FSH

Animais e local de realização do estudo

O experimento foi conduzido em fazenda comercial localizada no centroeste do Brasil, entre janeiro e março de 2013. As fêmeas utilizadas (n=938) pertenciam a raça Nelore (*Bos indicus*), de categoria primípara (n=164) e plurípara (n=748), com período pós parto entre 30 e 50 dias, escore de condição corporal (ECC) médio de $2,9 \pm 0,3$ [escala de 1-5; [10]]. Os animais foram

mantidos em pastejo contínuo em *Brachiaria brizantha* e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

Desenho experimental

As vacas foram submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação a base de estrógeno e progesterona similar ao apresentado no Experimento 1. Do mesmo modo, as vacas foram distribuídas em grupo Controle (n=307), grupo FSH (n=296) e grupo eCG (n=335). Após os tratamentos, todas as vacas foram submetidas a inseminação artificial 48 horas após a retirada do implante de progesterona (D10). O procedimento de IA foi realizado por um único técnico, não ciente do grupo de tratamento de cada animal. A expressão do estro foi avaliada com auxílio de marcação com bastão de cera sobre a região do osso sacro no D8, sendo que as vacas que não mais apresentavam marcação no D10 foram consideradas como indivíduos que apresentaram estro. Utilizou-se sêmen comercial congelado de 3 touros com fertilidade comprovada e as doses de sêmen dos diferentes touros foram distribuídos uniformemente entre os grupos de tratamento.

Exames ultrassonográficos

Em um subgrupo (n=410), exames ultrassonográficos (US; Chison 600 VET, transdutor linear 5MHz, China) foram realizados no D0 (verificar a ausência de corpo lúteo e, conseqüentemente, de ciclicidade ovariana), no D8 (equilibrar o diâmetro folicular entre os tratamentos) e no D10 (avaliar o crescimento folicular). Além disso, em todos os animais do estudo foi realizado exame ultrassonográfico 30 dias após a inseminação artificial para verificar a taxa de prenhez.

Experimento 3: Taxas de demonstração de estro e de prenhez de vacas *Bos indicus* tratadas com eCG

Animais e local de realização do estudo

O experimento foi conduzido em fazenda comercial localizada no centroeste do Brasil, em janeiro de 2013. As fêmeas utilizadas (n=603) pertenciam a raça Nelore (*Bos indicus*), de categoria primípara (n=288) e plurípara (n=315), com período pós parto entre 30 e 50 dias, escore de condição corporal (ECC) médio de $2,75 \pm 0,3$ [escala de 1–5; [10]]. Os animais foram mantidos em pastejo contínuo em *Brachiaria brizantha* e tiveram acesso *ad libitum* a água e suplementação mineral.

Desenho experimental

As vacas foram submetidas a um protocolo de sincronização da ovulação a base de estrógeno e progesterona similar ao apresentado no Experimento 1. Porém, as vacas foram somente distribuídas em dois tratamentos, sendo o grupo controle (n=315), em que os animais não receberam nenhum tipo de suplementação hormonal na retirada do dispositivo de progesterona e grupo eCG (n=288), em que as vacas receberam 300 UI de eCG (Folligon®, Intervet, Holanda). A expressão do estro foi avaliada de forma similar a apresentada no Experimento 2. Exame ultrassonográfico foi realizado 30 dias após a inseminação artificial para verificar a taxa de prenhez.

Análise estatística

A análise estatística foi realizada com auxílio do software Statistical Analysis System for Windows® (SAS, 2000). As variáveis contínuas foram submetidas à análise de diferentes distribuições de dados e foram utilizadas para verificar diferença entre os tratamentos, as análises que apresentavam o menor Akaike's An Information Criterion (AIC). Para essa avaliação foi utilizado o procedimento GLIMMIX. A taxa de prenhez foi analisada por regressão logística utilizando a avaliação de dados binomiais pelo procedimento GLIMMIX. Considerou-se como diferença significativa entre as variáveis testadas o $P < 0,05$. As variáveis contínuas foram expressas em média e erro padrão da média (média \pm EPM) e a binomial em porcentagem.

Resultados

Experimento 1: Dinâmica folicular de vacas *Bos indicus* tratadas com eCG ou FSH

Na dinâmica folicular foram avaliadas as seguintes variáveis: diâmetro do folículo dominante no momento da retirada do dispositivo de progesterona (DR), crescimento folicular (CF), diâmetro máximo do folículo dominante (DMFD), diâmetro máximo do folículo ovulatório (DMFO), momento da ovulação (MOV) e taxa de ovulação (TO). Não houve diferença estatística entre os tratamentos nas variáveis estudadas ($P > 0,05$; tabela 1).

Experimento 2: Taxa de prenhez de vacas *Bos indicus* tratadas com eCG ou FSH

Não houve interação categoria e tratamento para as variáveis diâmetro do folículo na retirada ($P=0,48$), diâmetro do folículo na inseminação ($P=0,73$) e crescimento folicular ($P=0,10$). Em função da divisão equilibrada do diâmetro folicular entre os grupos, não se verificou diferença no folículo dominante no dia da retirada do dispositivo de progesterona ($P=0,70$). Além disso, não foi verificada diferença no folículo dominante no dia da inseminação ($P=0,11$). No entanto, verificou-se que o Grupo eCG apresentou maior crescimento folicular entre a retirada do dispositivo e a inseminação artificial ($P=0,0001$; tabela 2). Em relação à categoria, verificou-se que primíparas apresentaram menor diâmetro do folículo dominante no D8 ($P=0,0001$) e no D10 ($P=0,0001$). No entanto, o crescimento folicular foi semelhante entre as categorias de animais ($P=0,24$; tabela 2).

Na expressão de estro, não houve efeito de tratamento [63,9% (101/158) para o Grupo Controle; 57,9% (77/133) para o Grupo FSH e 65,5% (112/171) para o Grupo eCG; $P=0,56$], de categoria [64,5% (107/166) para primíparas e 61,8% (183/296) para pluríparas; $P=0,60$], ou interação tratamento e categoria ($P=0,81$; tabela 3). Na taxa de prenhez, verificou-se interação tratamento categoria ($P=0,007$; tabela 3) em que primíparas, o Grupo eCG apresentou maior taxa de prenhez e em pluríparas, o Grupo eCG foi maior que o grupo Controle e semelhante ao Grupo FSH. No entanto, o Grupo FSH foi semelhante ao Grupo Controle.

Experimento 3: Taxas de demonstração de estro e de prenhez de vacas *Bos indicus* tratadas com eCG

Com relação à expressão de estro, não foi verificada interação tratamento e categoria ($P=0,27$), efeito de tratamento [Grupo Controle 60,3% (190/315) e Grupo eCG 66,0% (190/288); $P=0,17$] e efeito de categoria animal [Primíparas 60,8% (175/288) e pluríparas 65,1% (205/315); $P=0,26$]. No entanto, vacas que expressaram estro durante o protocolo apresentaram maior taxa de prenhez [Vacas em estro, 41,1% (153/372) e sem estro 24,6% (50/219)]. Para taxa de prenhez, verificou-se interação tratamento e categoria animal ($P=0,005$). O tratamento com eCG aumentou ($P=0,001$) a taxa de prenhez tanto em vacas primíparas [Grupo Controle 9,7% (15/154) e Grupo eCG 41,4% (55/133)] quanto em vacas pluríparas [Grupo Controle 37,5% (60/160) e Grupo eCG 49,7% (77/155)]. Porém, a diferença entre os tratamentos foi mais evidente em vacas primíparas. Além disso, vacas primíparas [24,4% (70/287)] apresentaram menor taxa de prenhez que as vacas pluríparas [43,5% (137/315); $P=0,001$]. Não houve efeito de ECC ($P>0,05$).

Discussão

No presente estudo verificou-se que vacas que receberam eCG durante o protocolo de IATF apresentaram maior crescimento folicular e fertilidade do que vacas não tratadas. Além disso, a administração de FSH na retirada do dispositivo de progesterona não interferiu na dinâmica folicular e fertilidade de vacas *Bos indicus* submetidas o protocolo de sincronização da ovulação tendo como base progesterona e estradiol. Dessa forma, a hipótese do presente estudo foi rejeitada. Verificou-se também que vacas primíparas *Bos indicus*

apresentaram comprometimento na fertilidade quando submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação.

Os achados do presente estudo podem estar associados às diferenças farmacocinéticas das gonadotrofinas empregadas nos tratamentos. A maior meia vida da eCG na corrente sanguínea [11] possibilita maior estímulo no folículo dominante, acelerando o seu crescimento final. A função do LH no crescimento folicular e sua associação com receptores nas células da granulosa já estão bem estabelecidas. O LH é capaz de promover uma cascata de reações moleculares que, por sua vez, irão produzir enzimas catalíticas responsáveis pela produção de esteroides e, conseqüentemente, desenvolvimento final do folículo dominante [12]. Sugere-se que a eCG possui a mesma capacidade de estimular essa cascata de reações para a produção de estradiol, pois há evidências de que essa gonadotrofina atua nas células da granulosa e da teca elevando a produção desse esteroide [13,14], proporcionando assim, maior taxa de ovulação [7].

A eCG promoveu o crescimento final do folículo tanto em vacas primíparas quanto múltíparas. No entanto, o diâmetro folicular no dia da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona e no dia da inseminação foi menor em primíparas, provavelmente devido ao maior balanço energético negativo nessa categoria animal durante o pós parto inicial. Tal condição diminui a frequência de pulsos de LH pela redução das concentrações séricas de glicose e insulina [15,16]. Assim, o menor crescimento folicular em primíparas pode ser explicado pela maior dependência do folículo dominante ao LH [17]. Nessa categoria animal, os efeitos da eCG são mais evidentes no crescimento final do folículo dominante devido essa gonadotrofina possuir afinidade tanto para o LH quanto para o FSH [1,13]. Além disso, a administração de eCG aumentou a taxa de prenhez tanto de categoria primípara quanto plurípara, demonstrando a capacidade da eCG em suprir a deficiência de pulsos de LH [1,18], promovendo maior crescimento final do folículo dominante e maior taxa de ovulação. Tal

diferença em relação ao FSH, se deve a maior meia vida na corrente sanguínea da eCG [8] promovendo estímulo por mais tempo, além de proporcionar maior funcionalidade do corpo lúteo subsequente e, conseqüentemente, um ambiente uterino mais favorável ao desenvolvimento embrionário [19].

Apesar da eCG aumentar a taxa de prenhez em ambas as categorias de vacas (primíparas e pluríparas) as vacas primíparas apresentaram menor taxa de prenhez quando comparada a plurípara. Tal diferença foi observada devido a ingestão de nutrientes no período pós parto em vacas primíparas não ser suficiente para atender às exigências metabólicas de crescimento corporal e lactação. Nessas condições, a eCG é capaz de amenizar os efeitos negativos destes fatores sobre a pulsatilidade de LH. No entanto, não pode erradicá-los[20].

Semelhante ao observado na literatura [19], vacas que expressaram estro durante o protocolo apresentaram maior taxa de prenhez, devido maior diâmetro do folículo préovulatório, maior taxa de ovulação e superior atividade lútea subsequente. Além disso, o pico de estradiol responsável pelo comportamento de demonstração de estro também influencia no transporte espermático e na manutenção da viabilidade espermática até o momento da fertilização, uma vez que proporciona alterações no ambiente uterino[21]. Porém, a eCG e o FSH não interferiram nessa variável.

Conclusão

A suplementação com FSH na retirada do dispositivo de progesterona não promoveu resultados semelhantes a eCG no crescimento final do folículo dominante e na taxa de prenhez em vacas de corte submetidas à protocolos de IATF a base de progesterona e estrógeno.

REFERÊNCIAS

- [1] Baruselli PS, Reis EL, Marques MO, Nasser LF, Bó G a. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83:479–86. doi:10.1016/j.anireprosci.2004.04.025.
- [2] Baruselli PS, Sales JNS, Sala R V, Vieira LM, Filho MFS. History, evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. *Anim Reprod* 2012;9:139–52.
- [3] Carvalho JBP, Carvalho N a T, Reis EL, Nichi M, Souza a H, 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;69:167–75. doi:10.1016/j.theriogenology.2007.08.035.
- [4] Sales JNS, Carvalho JBP, Crepaldi G a, Cipriano RS, Jacomini JO, Maio JRG, et al. Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 2012;78:510–6. doi:10.1016/j.theriogenology.2012.02.031.
- [5] Bó G a ., Baruselli PS , Martínez MF . Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci* 2003;78:307–26. doi:10.1016/S0378-4320(03)00097-6.
- [6] Baruselli PS, Jacomini JO, Sales JNS, Crepaldi GA. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. III Simpósio Int Reprodução Anim Apl Proc 2008;3:146–67.
- [7] Peres RFG, Claro I, Sá Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JLM. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology* 2009;72:681–9. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.04.026.

- [8] Sales JNS, Crepaldi G a, Girotto RW, Souza a H, Baruselli PS. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. *Anim Reprod Sci* 2011;124:12–8. doi:10.1016/j.anireprosci.2011.02.007.
- [9] Fortune JE, Rivera GM, Evans a C, Turzillo a M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol Reprod* 2001;65:648–54.
- [10] Ayres H, Ferreira RM, de Souza Torres-Júnior JR, Demétrio CGB, de Lima CG, Baruselli PS. Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. *Livest Sci* 2009;123:175–9. doi:10.1016/j.livsci.2008.11.004.
- [11] Murphy BD, Martinuk SD. Equine chorionic gonadotropin. *Endocr Rev* 1991;12:27–44. doi:10.1210/edrv-12-1-27.
- [12] Grummer RR, Carroll DJ. A Review of Lipoprotein Cholesterol Metabolism: Importance to Ovarian Function. *J Anim Sci* 1988;66:3160–73.
- [13] Rensis F De, López-Gatius F. Use of Equine Chorionic Gonadotropin to Control Reproduction of the Dairy Cow: A Review. *Reprod Domest Anim* 2014;49:177–82. doi:10.1111/rda.12268.
- [14] Soumano K, Silversides DW, Doiz F, Price CA. Follicular 31-Hydroxysteroid Dehydrogenase and Cytochromes P450 17 α -Hydroxylase and Aromatase Messenger Ribonucleic Acids in Cattle Undergoing Superovulation. *Biology (Basel)* 1996;55:1419–26.
- [15] Grimard B, Humblot P, Ponter AA, Mialot JP, Sauvant D, Thibier M. Influence of postpartum energy restriction on energy status, plasma LH and oestradiol secretion and follicular development in suckled beef cows. *J Reprod Fertil* 1995;104:173–9.
- [16] Randel RD, Lammoglia MA, Lewis AW, Neuendorff DA, Guthrie MJ. Exogenous PGF_{2a} enhance GnRH-induced LH release in postpartum cows. *Theriogenology* 1996;45:643–54.

- [17] Ginther OJ, Wiltbank MC, Fricke PM, Gibbons JR, Kot K. Selection of the Dominant Follicle in Cattle. *Biol Reprod* 1996;55:1187–94.
- [18] Soumano K, Price CA. Ovarian Follicular Steroidogenic Acute Regulatory Protein, Low-Density Lipoprotein Receptor, and Cytochrome P450 Side-Chain Cleavage Messenger Ribonucleic Acids in Cattle Undergoing Superovulation. *Biol Reprod* 1997;52:516–22.
- [19] Sá Filho MF, Santos JEP, Ferreira RM, Sales JNS, Baruselli PS. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. *Theriogenology* 2011;76:455–63. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.02.022.
- [20] Sá Filho OG, Dias CC, Lamb GC, Vasconcelos JLM. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous *Bos indicus* beef cows. *Anim Reprod Sci* 2010;119:9–16. doi:10.1016/j.anireprosci.2009.12.011.
- [21] Hawk HW. Sperm survival and transport in the female reproductive tract. *J Dairy Sci* 1983;66:2645–60.

Tabela 1

Efeito do tratamento com FSH ou eCG sobre a dinâmica folicular de vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF a base de E2/P4 (mm).

	Controle	FSH	eCG	<i>P</i>
Diâmetro (mm)				
Retirada P4	8,7 ± 0,7	8,5 ± 0,6	8,4 ± 0,6	0,82
Máximo FD	11,1 ± 0,9	11,5 ± 0,8	12,9 ± 0,9	0,37
Máximo FO	13,8 ± 0,9	13,9 ± 0,7	14,1 ± 0,5	0,97
Crescimento Folicular (mm/dia)	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,2	1,5 ± 0,3	0,06
Momento Ovulação (h)	68,0 ± 3,9	68,0 ± 7,4	72,3 ± 2,8	0,62
Taxa de Ovulação (%)	44,4 (8/18)	37,5 (6/16)	77,8 (14/18)	0,06

IATF, inseminação artificial em tempo fixo; E2, estradiol; P4, progesterona; FD, foliculo dominante; FO, foliculo ovulatório.

Tabela 2

Dinâmica folicular de vacas Nelore tratadas com FSH ou eCG e das diferentes categorias animais, submetidas a protocolo de sincronização da ovulação a base de E2/P4 (mm).

	Diâmetro (mm)		Crescimento FD (mm/dia)	<i>P</i>		
	Retirada P4	IATF		DFR	DFIA	CF
Tratamentos				0,70	0,11	0,001
Controle	9,5 ± 0,3	10,8 ± 0,3	0,65 ^b ± 0,1			
FSH	9,8 ± 0,3	11,4 ± 0,3	0,77 ^b ± 0,1			
eCG	9,4 ± 0,3	11,7 ± 0,3	1,11 ^a ± 0,1			
Categoria				0,001	0,001	0,24
Primipara	8,1 ± 0,2	9,5 ± 0,2	0,7 ± 0,1			
Pluripara	10,4 ± 0,2	12,3 ± 0,2	0,9 ± 0,1			

P4, progesterona; IATF, inseminação artificial em tempo fixo; FD, folículo dominante; DFR, diâmetro folicular na retirada; DFIA, diâmetro folicular na inseminação artificial; CF, crescimento folicular.

Tabela 3

Efeito do tratamento com FSH ou eCG nas taxas de cio e prenhez de vacas primíparas e pluríparas da raça Nelore submetidas a protocolo de IATF a base de E2/P4 (%).

	Pluríparas			Primíparas			<i>P</i>		
	Controle	FSH	eCG	Controle	FSH	eCG	Trat	Cat	Trat* Cat
Taxa de Cio	63,1 (65/103)	55,9 (52/93)	66,0 (66/100)	65,5 (36/55)	62,5 (25/40)	64,8 (46/71)	0,56	0,60	0,81
Taxa de Prenhez	43,90 ^b (108/246)	51,00 ^{ab} (127/249)	57,31 ^a (145/253)	13,2 ^b (7/53)	7,7 ^b (3/39)	41,7 ^a (30/72)	0,001	0,001	0,007

IATF, inseminação artificial em tempo fixo; E2, estradiol; P4, progesterona.

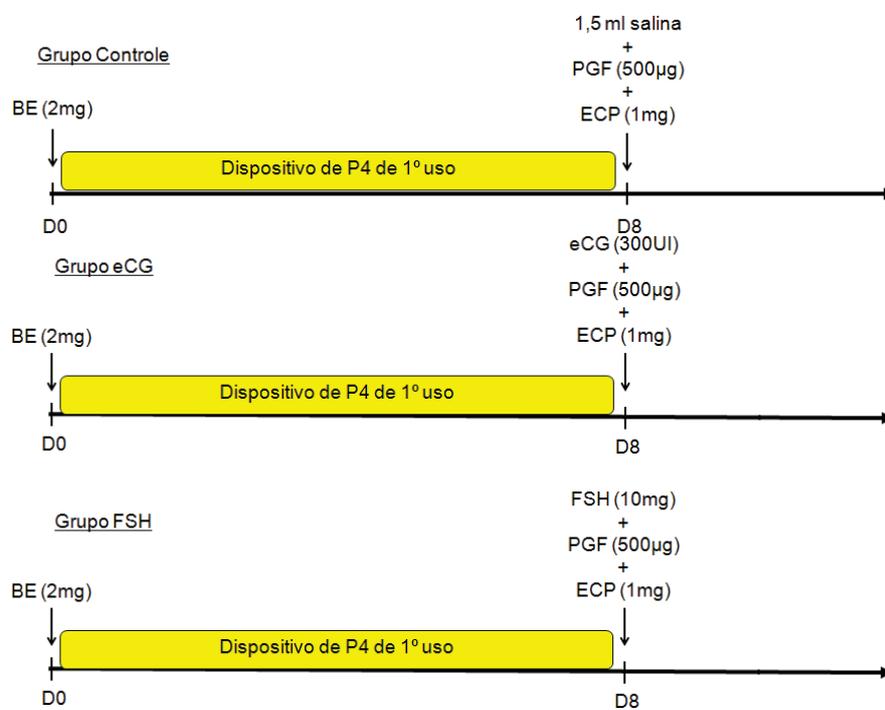


Fig. 1. Desenho experimental (BE, benzoato de estradiol; P4, progesterona; PGF, prostaglandina 2 α ; ECP, cipionato de estradiol)

(VERSÃO PRELIMINAR)