JOÃO BATISTA PEREIRA DE CARVALHO

**Sincronização da ovulação com dispositivo
intravaginal de progesterona (CIDR[®]) em novilhas
Bos indicus, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus***

São Paulo

2004

JOÃO BATISTA PEREIRA DE CARVALHO

**Sincronização da ovulação com dispositivo
intravaginal de progesterona (CIDR[®]) em novilhas
Bos indicus, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária.

Departamento:
Reprodução Animal

Área de Concentração:
Reprodução Animal

Orientador:
Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

São Paulo

2004

T.1395
FMVZ

Carvalho, João Batista Pereira de

Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus* / João Batista Pereira de Carvalho. - São Paulo : J. B. P. Carvalho, 2004.

122 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2004.

Programa de Pós-graduação: Reprodução Animal.
Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli.

1. Hormônios progestacionais. 2. Dinâmica folicular.
3. Sincronização da ovulação. 4. Bovinos. I. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: CARVALHO, João Batista Pereira de

Título: Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR[®]) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof.Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

*À minha esposa Maria Inês, pelo carinho,
compreensão e apoio em todos os
momentos deste trabalho e de nossa vida
juntos.*

*À minha família, em especial aos meus
pais, Jayme (in memoriam) e Maria, a
quem devo eterna gratidão, pelo amor,
incentivo e dedicação.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli, pela orientação, amizade, confiança e, sobretudo, pela humildade, competência e constante dedicação.

Ao Prof. Dr. Renato Campanarut Barnabe, pelo incentivo e apoio mas, muito além disso, pelo exemplo: o seu inesgotável interesse pela reprodução animal e a sua infinita paixão pelo ensino e pela pesquisa constituem-se em um paradigma a ser seguido por toda a comunidade científica.

Ao Prof. Dr. Cláudio Alvarenga de Oliveira, Chefe do Departamento e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal, pela oportunidade e pela amizade.

Ao Prof. Dr. José Antônio Visintin - sempre afável e disposto a contribuir -, pelos esclarecimentos e sugestões.

Ao Dr. Irineu Arcaro Júnior - Diretor Técnico do Departamento de Descentralização do Desenvolvimento da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios -, pela concessão do afastamento parcial nos dois últimos anos do curso.

Ao Dr. Omar Vieira Villela, Diretor Técnico de Divisão do Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba, por disponibilizar os animais e as instalações da estação experimental.

Aos amigos Nélcio Antonio T. de Carvalho e Everton L. Reis, pela valiosa colaboração durante a execução dos experimentos relacionados à dinâmica folicular.

Ao amigo Marcílio Nichi, do Departamento de Reprodução Animal, pela realização da análise estatística dos dados.

Ao Sr. João Carlos Saad, que possibilitou a execução deste trabalho, cedendo os animais e a estrutura funcional da Fazenda Ponte Nova, município de São Luiz do Paraitinga (SP).

Ao Engenheiro Agrônomo Nilo Eduardo B. de Carvalho, gerente da Fazenda Ponte Nova, e aos funcionários de apoio Sílvia R. de Paula, José D. Rosa e Benedito J. Paiva, pela colaboração no manejo dos animais e na condução do experimento.

Ao estudante Paulo Antônio M. Barros Jr., amigo e proprietário, pela concessão de parte dos animais utilizados neste experimento.

Aos funcionários de apoio à pesquisa Valdomiro Chinaqui e Adilson A. dos Santos, pela colaboração no manejo dos animais durante o período experimental.

Aos Engenheiros Agrônomos Pedro Aldo Amadei e Pedro Aldo Amadei Jr., pela valiosa ajuda no fornecimento de ração concentrada aos animais do experimento.

Ao laboratório Pfizer, pela doação dos produtos para a realização do experimento.

À Érica Cristiane G. Fellipe - e ao Laboratório de Dosagens Hormonais do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo -, pela execução das dosagens de progesterona.

Às bibliotecárias Maria Cláudia Pestana e Pedra Margarete de Siqueira, bem como às funcionárias da Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela elaboração da ficha catalográfica, revisão das referências bibliográficas e normalização desta tese.

À Harumi Shiraishi e à Thaís Soto, secretárias de Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal, pela amizade e esclarecimentos.

À Cláudia, Dayse e Sandra, do Serviço de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, pela gentileza com que sempre me atenderam.

À Marieta Trancoso de Castro, pela formatação e revisão deste trabalho.

Ao Departamento de Reprodução Animal, seus professores, funcionários, alunos de pós-graduação e estagiários, pelo convívio e ensinamentos.

À minha estimada irmã Darci de Carvalho Franco e família, pela acolhida, atenção e carinho.

“assim como uma só andorinha ou um só dia não fazem verão, igualmente um só dia ou um curto espaço de tempo não fazem o homem feliz.”

(ARISTÓTELES - Ética a Nicômaco)

CARVALHO, J. B. P. **Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*.** [Synchronization of ovulation with intravaginal progesterone device in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers]. São Paulo, 2004. 122 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004.

RESUMO

O presente estudo avaliou os efeitos do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®), associado ao benzoato de estradiol (BE) e à prostaglandina F_{2α} (PGF), sobre a dinâmica folicular de novilhas *B. indicus* (Nelore e Gir), *B. taurus* (Angus e HPB) e respectivos cruzamentos. Para avaliar o efeito de diferentes concentrações séricas de progesterona (P₄) na dinâmica folicular (fatorial 2 x 3), metade das novilhas dos três grupamentos genéticos receberam uma dose de PGF no momento da inserção do dispositivo (D0). Do D0 à retirada do dispositivo (D8), o crescimento folicular foi monitorado por ultra-sonografia em intervalos de 24h, e do D8 até a ovulação, essa monitoração foi realizada em intervalos de 12h. Amostras de sangue foram colhidas para dosagem da concentração de P₄ no D0, no D3, no D6, no D8 e no D10. O diâmetro máximo do FD foi menor (P<0,05) nas novilhas *B. indicus* (9,5 ± 0,5mm) do que nas cruzadas (12,3 ± 0,4mm) e *B. taurus* (11,6 ± 0,5mm). O tratamento com PGF no D0 aumentou (P<0,05) o diâmetro do FD (11,9 ± 0,4 x 10,5 ± 0,5mm). A taxa de crescimento do FD foi menor (P<0,05) nas novilhas *B. indicus* (0,9 ± 0,1mm/dia) do que nas novilhas cruzadas (1,2 ± 0,1mm/dia) e *B. taurus* (1,1 ± 0,1mm/dia). A taxa de crescimento foi maior (P<0,05) nas novilhas tratadas com PGF no D0 (1,2 ± 0,1 x 0,9 ± 0,1mm/dia). A taxa de ovulação foi menor (P<0,05) nas novilhas *B. indicus* (39,1 %) do que nas novilhas cruzadas (84,0 %) e *B. taurus* (72,7 %). Novilhas tratadas com PGF no D0 apresentaram maior (P<0,05) taxa de ovulação (78,8 x 54,0 %). O intervalo entre a retirada do dispositivo de P₄ (D8) e a ovulação foi maior (P<0,05) nas novilhas *B. indicus* (78,0 ± 2,3h) do que nas novilhas *B. taurus* (73,5 ± 1,0h). A concentração sérica de P₄ durante o tratamento (D0 a D8) diferiu (P<0,05) entre as novilhas *B. indicus* (5,4 ± 0,4ng/ml), *B. taurus* (3,3 ± 0,2ng/ml) e cruzadas (4,3 ± 0,3ng/ml). A concentração de P₄ foi menor (P<0,05) nas novilhas tratadas com PGF no D0 (3,3 ± 0,2 x 5,2 ± 0,3ng/ml). Em resumo, as novilhas *B. indicus* apresentaram menor taxa de crescimento (mm/dia), menor diâmetro máximo do FD, menor taxa de ovulação e maior concentração sérica de P₄ durante o tratamento do que as novilhas *B. taurus*. O tratamento com PGF no D0 aumentou a taxa de crescimento folicular, o diâmetro máximo do FD e a taxa de ovulação, e diminuiu a concentração sérica de P₄ durante o tratamento em novilhas.

Unitermos: Hormônios progestacionais; Dinâmica folicular; Sincronização da ovulação; Bovinos.

CARVALHO, J. B. P. **Synchronization of ovulation with intravaginal progesterone device in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* and *Bos taurus* heifers** [Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*]. São Paulo, 2004. 122 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004.

ABSTRACT

This study evaluated the effect of treatment with progesterone intravaginal device (CIDR®) associated to estradiol benzoate (BE) and prostaglandin F_{2α} in the follicular dynamic of *B. indicus* (Nelore and Gir), *B. taurus* (Angus and BWH) and respectively cross-breed. Aiming to evaluate the effect of different plasmatic progesterone concentration (P₄) in the follicular dynamic (3 by 2 factorial design), a half of heifers in each genetic group received PGF at moment of device insertion (D0). The ultrasonography was performed from D0 to D8 (device withdrawal) every 24 hours, and from D9 to ovulation every 12 hours to evaluate the follicular growth. All heifers were bled on D0, on D3, on D6, on D8 and on D10 for determination of serum progesterone concentration. The maximum diameter of DF was lower (P<0.05) in *B. indicus* heifers (9.5 ± 0.5mm) than in cross-breed (12.3 ± 0.4mm) and in *B. taurus* (11.6 ± 0.5mm) heifers. The PGF treatment on D0 increased (P<0.05) the diameter of DF (11.9 ± 0.4 x 10.5 ± 0.5mm). The growth rate of DF was lower (P<0.05) in *B. indicus* heifers (0.9 ± 0.1mm/day) than in cross-breed (1.2 ± 0.1mm/day) and in *B. taurus* (1.1 ± 0.1mm) heifers. The growth rate was higher (P<0.05) in heifers that received PGF on D0 (1.2 ± 0.1 x 0.9 ± 0.1mm/day). The ovulation rate was lower (P<0.05) in *B. indicus* heifers (39.1%) than in cross-breed (84.0%) and in *B. taurus* (72.7%). Heifers treated with PGF presented higher (P<0.05) ovulation rate (78.8 x 54.0%). The interval between device removal (D8) and ovulation was larger (P<0.05) in *B. indicus* (78.0 ± 2.3h) than in *B. taurus* heifers (73.5 ± 1.0h). The mean serum P₄ concentration during the treatment (D0 to D8) differed (P<0.05) between *B. indicus* (5.4 ± 0.4ng/ml), *B. taurus* (3.3 ± 0.2ng/ml) and cross-breed (4.3 ± 0.3ng/ml) heifers. The P₄ concentration was lower (P<0.05) in heifers that received PGF on D0 (3.3 ± 0.2 x 5.2 ± 0.3ng/ml). In brief *B. indicus* heifers presented lower growth rate (mm/day), lower maximum diameter of DF, lower ovulation rate and higher serum P₄ concentration during the treatment than *B. taurus* heifers. The PGF treatment on D0 increased the follicular growth rate, the maximum diameter of DF and the ovulation rate, decreased the serum P₄ concentration during the treatment in heifers.

Key words: Progestacional hormones, Follicular Dynamic, Synchronization of ovulation, Bovines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Animais do Experimento 1	47
Figura 2 -	Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e de prostaglandina no D8, em novilhas Nelore (N-sPGF; n=6), Nelore x Angus (NxA-sPGF; n=7) e Angus (A-sPGF; n=6). Pindamonhangaba (SP), 2003	49
Figura 3 -	Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e prostaglandina no D0 e no D8, em novilhas Nelore (N-cPGF; n=6), Nelore x Angus (NxA-cPGF; n=6) e Angus (A-cPGF; n=6). Pindamonhangaba (SP), 2003	49
Figura 4 -	Desenho esquemático dos exames ultra-sonográficos. Pindamonhangaba (SP), 2003	50
Figura 5 -	Protocolo para colheita de sangue para dosagem de progesterona. Pindamonhangaba (SP), 2003	51
Figura 6 -	Animais do Experimento 2	53
Figura 7 -	Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e de prostaglandina no D8, em novilhas Gir (G-sPGF; n=6), Girolando (GxHPB-sPGF; n= 6) e Holandês Preto e Branco (HPB-sPGF; n=5). Pindamonhangaba (SP), 2003	55
Figura 8 -	Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e de prostaglandina no D0 e D8, em novilhas Gir (G-cPGF; n=5), Girolando (GxHPB-cPGF; n=6) e Holandês Preto e Branco (HPB-cPGF; n=5). Pindamonhangaba (SP), 2003	55

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Dinâmica folicular de novilhas Nelore, Nelore x Angus e Angus tratadas com dispositivo intravaginal de P ₄ associado a benzoato de estradiol e prostaglandina. Pindamonhangaba, 2003	65
Gráfico 2 -	Dinâmica folicular de novilhas Gir, Girolando e Holandês tratadas com dispositivo intravaginal de P ₄ associado a benzoato de estradiol e prostaglandina. Pindamonhangaba, 2003	72
Gráfico 3	Dinâmica folicular de novilhas <i>Bos indicus</i> , <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> e <i>Bos taurus</i> tratadas com dispositivo intravaginal de P ₄ associado a benzoato de estradiol e prostaglandina. Pindamonhangaba, 2003	79
Gráfico 4 -	Crescimento folicular durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona conforme administração de PGF no Dia 0 em novilhas <i>Bos indicus</i> (n=23), <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> (n=25) e <i>Bos taurus</i> (n=22). Pindamonhangaba, 2003	80
Gráfico 5 -	Concentração sérica de progesterona durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona em novilhas <i>Bos indicus</i> , <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> e <i>Bos taurus</i> . Pindamonhangaba, 2003	86
Gráfico 6 -	Concentração sérica de progesterona durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona conforme a administração de PGF no D0 em novilhas <i>Bos indicus</i> , <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> e <i>Bos taurus</i> . Pindamonhangaba, 2003	87
Gráfico 7 -	Concentração sérica de progesterona total durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona em novilhas <i>Bos indicus</i> , <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> e <i>Bos taurus</i> . Pindamonhangaba, 2003	89
Gráfico 8 -	Concentração sérica de progesterona total durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona conforme a administração de PGF no Dia 0 em novilhas <i>Bos indicus</i> , <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> e <i>Bos taurus</i> . Pindamonhangaba, 2003	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Análise do efeito dos tratamentos - com e sem PGF no D0 -, dos grupos genéticos – Nelore, Angus e Nelore x Angus -, e da interação tratamentos x grupos genéticos sobre as variáveis estudadas- Pindamonhangaba, 2003	61
Tabela 2 -	Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento em novilhas Nelore, Nelore x Angus e Angus tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (Dia 0) – Pindamonhangaba, 2003 ...	64
Tabela 3 -	Taxa de ovulação, momento da ovulação, diâmetro do CL, área do CL, progesterona total no D22, progesterona de novilhas ovuladas no D22 nos grupos genéticos Nelore, Nelore x Angus e Angus tratados com dispositivo intravaginal contendo progesterona segundo tratamento com prostaglandina, no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003	67
Tabela 4 -	Análise do efeito dos tratamentos - com e sem PGF no D0 -, dos grupos genéticos - Gir, Holandês e Girolando -, e da interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas – Pindamonhangaba, 2003	68
Tabela 5 -	Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento em novilhas Gir, Gir x HPB e HPB tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003	71
Tabela 6 -	Taxa de ovulação, momento da ovulação, diâmetro do CL, área do CL, progesterona total no D22, progesterona de novilhas ovuladas no D22 nos grupos genéticos Gir, Gir x HPB e HPB tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003	74
Tabela 7 -	Análise do efeito da aptidão - corte ou leite -, do grupo genético - <i>Bos indicus</i> , <i>Bos taurus</i> e <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> - e da interação aptidão x grupo genético sobre as variáveis estudadas – Pindamonhangaba, 2003	75

Tabela 8 -	Análise do efeito do tratamento - com e sem PGF no D0 -, do grupo genético - <i>Bos indicus</i> , <i>Bos taurus</i> e <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> - e da interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas – Pindamonhangaba, 2003	76
Tabela 9 -	Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento em novilhas <i>B. indicus</i> , <i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> e <i>B. taurus</i> tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003	78
Tabela 10 -	Taxa de ovulação, momento da ovulação, progesterona total no D22, progesterona de novilhas ovuladas no D22 nos grupos genéticos <i>B. indicus</i> , <i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> e <i>B. taurus</i> tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003	82
Tabela 11 -	Análise da concentração de P ₄ de acordo com o tratamento - com e sem PGF -, o grupo genético - <i>Bos indicus</i> , <i>Bos taurus</i> e <i>Bos indicus</i> x <i>Bos taurus</i> -, e a interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas – Pindamonhangaba, 2003	83
Tabela 12 -	Concentração de P ₄ no D0, D3, D6, D8, D10 e total em novilhas <i>B. indicus</i> , <i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> e <i>B. taurus</i> tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003	84

LISTA DE ABREVIATURAS E DE SIGLAS

Ø CL	diâmetro do corpo lúteo
Ø FD no D8	diâmetro dos folículos no dia 8
Ø FD no D9	diâmetro dos folículos no dia 9
Ø máximo do FD	diâmetro máximo do folículo dominante
Ø máximo do FO	diâmetro máximo do folículo ovulatório
1/MOMOV	transformação para um sobre seus valores
A-cPGF	Angus com PGF no D0
A-sPGF	Angus sem PGF no D0
BE	benzoato de estradiol
BST	somatotrofina bovina
CIDR	dispositivo intravaginal de progesterona
CL	corpo lúteo
D	dia
E-17β	17β-estradiol
E ₂	estradiol
eCG	gonadotrofina coriônica eqüina
ECP	cipionato de estradiol
FD	folículo dominante
FMVZ/USP	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo
FO	folículo ovulatório
FP	folículo primordial
Fs	folículo subordinado

FSH	hormônio folículo estimulante
G-cPGF	Gir com PGF no D0
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofinas
G-sPGF	Gir sem PGF no D0
GxHPB-cPGF	Gir x HPB com PGF no D0
GxHPB-sPGF	Gir x HPB sem PGF no D0
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
Ho	hipótese de nulidade
HPB	Holandês Preto e Branco
HPB-cPGF	HPB com PGF no D0
HPB-sPGF	HPB sem PGF no D0
i.m	intramuscular
IA	inseminação artificial
IATF	inseminação artificial em tempo fixo
IGF	fator de crescimento semelhante à insulina
IGFBP	proteínas de ligação IGF
LH	hormônio luteinizante
LHRH	hormônio liberador de LH
Log ₁₀ x	logaritmo na base 10
MHz	megaHertz
mRNA	ácido ribonucléico mensageiro
N-cPGF	Nelore com PGF no D0
N-sPGF	Nelore sem PGF no D0
NxA-cPGF	Nelore x Angus com PGF no D0
NxA-sPGF	Nelore x Angus sem PGF no D0
P ₄	progesterona

PB	proteína bruta
PGF	PGF ₂ α
PRID	dispositivo de liberação interna da P ₄
RQ x	Raiz quadrada
SMB	Sincro-Mate B
SP	São Paulo
UI	unidade(s) internacional(is)
VE	valerato de estradiol
x ²	Quadrado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	HIPÓTESES DO TRABALHO	20
2	REVISÃO DA LITERATURA	21
2.1	FOLICULOGÊNESE E DINÂMICA FOLICULAR	21
2.1.1	Crescimento e Desenvolvimento Foliculares	22
2.1.2	Seleção do Folículo Dominante	24
2.1.3	Eventos Endócrinos que ocorrem durante o Crescimento do Folículo Dominante	26
2.2	FISIOLOGIA REPRODUTIVA EM <i>BOS TAURUS</i> E <i>BOS INDICUS</i>	28
2.3	SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO	30
2.3.1	Tratamentos com GnRH e PGF	32
2.3.2	Tratamentos com Progestágeno/Progesterona e Estradiol	35
2.3.3	Dispositivo Vaginal de Progesterona e Benzoato de Estradiol	40
3	MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1	EXPERIMENTO 1 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS NELORE (<i>BOS INDICUS</i>), NELORE X ANGUS (<i>BOS INDICUS</i> X <i>BOS TAURUS</i>) E ABERDEEN ANGUS (<i>BOS TAURUS</i>)	46
3.1.1	Animais e Local do Experimento	46
3.1.2	Delineamento Experimental	48
3.1.3	Tratamento hormonal	48
3.1.4	Ultra-sonografia e Dinâmica Folicular	50
3.1.5	Colheita de Sangue para Dosagem Hormonal	51
3.2	EXPERIMENTO 2 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS GIR (<i>BOS INDICUS</i>), GIR X HOLANDÊS PRETO E BRANCO - HPB - (<i>BOS INDICUS</i> X <i>BOS TAURUS</i>) E HPB (<i>BOS TAURUS</i>)	52
3.2.1	Animais e Local do Experimento	52
3.2.2	Delineamento Experimental	54
3.2.3	Tratamento hormonal	54
3.2.4	Ultra-sonografia e Dinâmica Folicular	56
3.2.5	Colheita de Sangue para Dosagem Hormonal	56

3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
3.3.1	Experimento 1 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS NELORE (<i>BOS INDICUS</i>), NELORE X ANGUS (<i>BOS INDICUS</i> X <i>BOS TAURUS</i>) E ABERDEEN ANGUS (<i>BOS TAURUS</i>)	57
3.3.2	Experimento 2 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS GIR (<i>BOS INDICUS</i>), GIR X HPB (<i>BOS INDICUS</i> X <i>BOS TAURUS</i>) E HPB (<i>BOS TAURUS</i>)	58
3.3.3	Análise conforme o Grupo Genético	59
4	RESULTADOS	61
4.1	EXPERIMENTO 1 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS NELORE (<i>BOS INDICUS</i>), NELORE X ANGUS (<i>BOS INDICUS</i> X <i>BOS TAURUS</i>) E ABERDEEN ANGUS (<i>BOS TAURUS</i>)	61
4.2	EXPERIMENTO 2 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS GIR (<i>BOS INDICUS</i>), GIR X HOLANDÊS PRETO E BRANCO - HPB - (<i>BOS INDICUS</i> X <i>BOS TAURUS</i>) E HPB (<i>BOS TAURUS</i>)	68
4.3	RESULTADOS CONFORME GRUPO GENÉTICO	75
4.3.1	Concentração Sérica de Progesterona	83
5	DISCUSSÃO	91
6	CONCLUSÕES	106
	REFERÊNCIAS	107

1 INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro é composto por aproximadamente 171 milhões de cabeças, das quais 136 milhões (80%) pertencem a raças de corte e 35 milhões (20%) a raças leiteiras. Entre os bovinos de corte, os animais da raça Nelore e seus cruzamentos somam mais de 90 milhões de cabeças, constituindo-se no maior rebanho de corte comercial do mundo. O momento é particularmente importante e as expectativas de mercado são promissoras para a pecuária bovina nacional, o que pode ser comprovado pela melhoria de desempenho produtivo e reprodutivo, e pelos recordes atingidos - produção de 7,4 milhões de toneladas de carcaça e exportação de 1,1 milhão de toneladas de carne - (GENOMA, 2003).

A introdução das raças zebuínas que, juntamente com seus cruzamentos, estão presentes na maior parte do rebanho nacional, foi de grande importância para a pecuária brasileira. Segundo Euclides Filho (1996), o cruzamento entre animais de raças zebuínas e européias constitui-se em uma forma prática, rápida e econômica de aumentar a produtividade dos rebanhos pela soma dos efeitos genéticos ou heterose.

A raça Gir - de grande aptidão leiteira - tem sido utilizada há muito tempo em cruzamentos com a raça holandesa, resultando em animais mestiços conhecidos como Girolandos. Graças a características como resistência aos endo/ectoparasitas, tolerância ao calor, rusticidade e adaptabilidade ao ambiente tropical – típicas do *Bos indicus* - e alta produção de leite – herdada do *Bos taurus* -, tais animais encontram grande aceitação no mercado. No que concerne aos rebanhos de corte, a utilização de uma base genética constituída pela raça Nelore (*B. indicus*), associada

às características de fertilidade, precocidade, longevidade e habilidade materna encontradas na raça Angus (*B. taurus*) está sendo muito usada, e constitui-se em uma alternativa viável para o aumento da produtividade e da qualidade da carne, com vistas a atender às exigências do mercado internacional.

A inseminação artificial (IA) teve grande impacto na constituição genética da população de bovinos em todo o mundo, tanto em raças puras quanto em cruzamentos, tornando possível a multiplicação de material genético superior em condições adversas de manejo e ambiente. Entretanto, a baixa eficiência na detecção do cio nessa espécie constitui-se em fator limitante para a utilização dessa biotécnica, reduzindo o desempenho reprodutivo. Assim, uma das alternativas para superar o problema da detecção de cio - em particular nas raças zebuínas, cujo comportamento estral apresenta particularidades (BARROS; FIGUEIREDO; PINHEIRO, 1995; FIGUEIREDO et al., 1997; PINHEIRO et al., 1998) - é desenvolver formas de tratamentos que sincronizem o crescimento folicular e a ovulação, possibilitando a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sem a necessidade de detecção do estro.

Nesse sentido, programas de sincronização da ovulação que controlam o desenvolvimento folicular e luteínico vêm sendo utilizados com sucesso para o emprego da IATF em fêmeas - vacas ou novilhas - das raças européias (CAVALIERI et al., 2003; MARTINEZ et al., 2000). Contudo, a adoção de protocolos de sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona em novilhas zebuínas não apresenta a mesma eficiência. Baruselli et al. (2001) observaram baixa taxa de ovulação (34%) em novilhas *Bos indicus* ao final do tratamento, inviabilizando a utilização de protocolos convencionais com dispositivos intravaginais de progesterona (P_4) para a IATF. Verifica-se, ainda, que níveis elevados de

progesterona diminuem a frequência de liberação do hormônio luteinizante - LH - (BERGFELD et al., 1995; BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996), o que pode comprometer a eficiência dos tratamentos com dispositivo intravaginal de progesterona. Dessa forma, novas e mais aprofundadas investigações são necessárias para melhorar o entendimento da endocrinologia e da dinâmica folicular - visando o aperfeiçoamento dos métodos de sincronização da ovulação para viabilizar a IATF - em novilhas *Bos indicus*.

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona - associado ou não à aplicação de prostaglandina no Dia (D) 0 - na dinâmica folicular de novilhas *B. indicus* - Nelore e Gir -, *B. taurus* - Angus e Holandês Preto e Branco (HPB) - e respectivos cruzamentos - Nelore x Angus e Gir x HPB.

1.1 HIPÓTESES DO TRABALHO

- As novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* respondem de forma diferente ao tratamento com *Controlled Internal Drug Release* - dispositivo intravaginal de progesterona - (CIDR).
- O tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona na presença de um corpo lúteo (CL) funcional interfere negativamente no crescimento do folículo dominante (FD) e na taxa de ovulação em novilhas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FOLICULOGÊNESE E DINÂMICA FOLICULAR

O estudo da foliculogênese - e mais especificamente dos mecanismos que controlam a dinâmica folicular - na espécie bovina tem sido considerado de grande importância para a sincronização do ciclo estral e o emprego de biotecnologias da reprodução. Nesse contexto, a foliculogênese pode ser definida como a sucessão de diferentes etapas do desenvolvimento folicular, desde o momento em que o folículo primordial (FP) sai da reserva - constituída a partir da ovogênese - e entra em fase de crescimento e maturação, até a sua regressão ou ruptura na ovulação (HANSEL; CONVEY, 1983).

Sob o aspecto histológico, o desenvolvimento folicular passa por diferentes estágios, que podem ser classificados em:

- 1) Folículo primordial – menor folículo observado no ovário, constituído pelo oócito rodeado por algumas células somáticas achatadas.
- 2) Folículo primário – apresenta uma camada de células cúbicas circundando o oócito e está situado nas camadas mais periféricas do córtex ovariano, constituindo a reserva dos folículos em repouso (ERICKSON, 1966).
- 3) Folículo secundário – normalmente conhecido como folículo pré-antral, é constituído por várias camadas de células cúbicas dispostas simetricamente ao redor do oócito; a zona pelúcida é formada nesse estágio, através das proteínas secretadas pelo oócito (WASSARMAN, 1989). É caracterizado morfológicamente

pela formação das tecas - externa e interna - a partir da migração das células mesenquimatosas em direção à membrana basal, e pela aquisição de vascularização independente (HIRSHFIELD, 1991).

- 4) Folículo terciário – estágio mais evoluído do desenvolvimento folicular. O volume do oócito permanece inalterado, e pequenas cavidades - que confluem para formar o antro, que tem sua origem no acúmulo de secreção das células da granulosa - aparecem na massa de células foliculares. Nesse estágio, o diâmetro do folículo atinge 300 a 400 μ (TURNBULL et al., 1977). Esses folículos constituem o *pool* dos quais deverá sair o folículo pré-ovulatório, e seu crescimento é absolutamente dependente das gonadotrofinas;
- 5) Folículo pré-ovulatório ou De Graaf – caracterizado por uma cavidade central que contém grande quantidade de líquido e reflui a granulosa para a periferia. No contorno do folículo dispõem-se a teca interna e externa; a teca interna é uma verdadeira glândula de secreção interna, e é considerada o ponto de partida da esteroidogênese ovariana (TOUATI et al., 1989).

2.1.1 Crescimento e Desenvolvimento Foliculares

Classicamente, a foliculogênese é dividida em dois períodos distintos: um ativo, do folículo primordial ao folículo secundário, e o outro que compreende o folículo pré-antral ao folículo maduro (TOUATI et al., 1989).

Lussier; Matton e Dufour (1987) detectaram, pela ultra-sonografia via transretal, que o crescimento dos folículos com tamanhos de 300 μ a 3–5mm de diâmetro é lento, de aproximadamente 30 dias, e está sob o controle intraovariano. A partir do estágio pré-antral entretanto, o crescimento é rápido e o folículo está sob a

dependência trófica, mas modulada, das gonadotrofinas hipofisárias que o conduzem ao estágio de folículo maduro. Segundo Lussier, Dufour e Matton (1983), são necessários 40 dias ou o equivalente a dois ciclos estrais para pré-antral atingir 8,5mm de diâmetro.

Embora a regulação do desenvolvimento pré-antral não tenha sido esclarecida, há evidências de que os fatores de crescimento e as proteínas de ligação modulam a foliculogênese pelos mecanismos de controle parácrinos e/ou endócrinos, desempenhando importante papel na regulação, proliferação e sobrevivência desses pequenos folículos (MONNIAUX et al., 1997).

Em publicação datada de 1992, Wandji, Pelletier e Sirardi demonstraram que, nos folículos pré-antrais, há escassez de sítios de ligação para gonadotrofinas e sítios de ligação não específicos do fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-I). Após a formação do antro, os sítios de ligação para gonadotrofinas aumentam. Durante o desenvolvimento folicular, parte das ações do IGF-I está envolvida na estimulação da célula da granulosa, na proliferação da teca e na esteroidogênese (SPICER; ALPIZAR; ECHETERNKAMP, 1993), bem como em prevenir a apoptose da célula folicular ovariana (CHUN et al., 1994). Com efeito, pesquisas têm demonstrado que o aumento dos sítios de ligação gonadotrofina coriônica humana (hCG)/LH nas células da teca está associado ao aumento do diâmetro dos folículos estrogênio-ativos. A investigação de Stewart et al. (1996) sustenta a hipótese de que a obtenção de receptores de LH nas células da teca e o aumento da biodisponibilidade de IGF-I no líquido folicular podem ser críticos para o estabelecimento da dominância folicular. Atualmente, vêm sendo desenvolvidos estudos voltados aos níveis de inibina sistêmica e à importância da IGF livre ou disponível no processo de seleção do folículo (MIHM et al., 2002).

2.1.2 Seleção do Folículo Dominante

O desenvolvimento dos folículos no ovário é um processo dinâmico que ocorre durante o ciclo estral e envolve o recrutamento dos folículos do *pool* de crescimento, a seleção fisiológica de um folículo ovulatório (FO) e a ovulação ou regressão. O destino da maioria dos folículos é a atresia, e um único folículo - nas espécies monovulatórias - é de algum modo selecionado, para continuar o desenvolvimento e chegar à eventual ovulação (ADAMS; PIERSON, 1995).

A teoria de ondas de desenvolvimento folicular ovariano de Rajakoski (1960) foi originalmente proposta com base na avaliação histológica e grosseira dos ovários obtidos de vacas abatidas. Associando essa teoria a observações diretas dos folículos, Matton et al. (1981) concluíram que, durante o ciclo estral, ocorrem duas ondas de crescimento do folículo antral. Já Spicer e Echternkamp (1986) refutaram a ocorrência de ondas, e sustentaram a idéia de que o crescimento era contínuo e independente das fase do ciclo estral; as controvérsias quanto à teoria das ondas persistiu por quase três décadas.

Com o advento da ultra-sonografia (PIERSON; GINTHER, 1984) - que permitiu observações em série dos ovários -, a teoria de ondas de desenvolvimento folicular foi confirmada. Os achados de Pierson e Ginther (1987), que utilizaram a ultra-sonografia transretal para monitorar a população de folículos de diferentes categorias de tamanho, confirmaram a veracidade dessa teoria.

Em novilhas, as concentrações sistêmicas de hormônio folículo estimulante (FSH) estão temporal (ADAMS et al., 1992) e funcionalmente (GIBBONS; WILTBANK; GINTHER, 1997) relacionadas à emergência de uma onda folicular. O pico de FSH é atingido quando o maior folículo emerge ao redor de 4mm de

diâmetro (GINTHER et al., 1996, 1997) e, a partir do declínio da onda ao nadir, e por um determinado período de tempo, o futuro FD e o maior folículo subordinado (fs) crescem a taxas similares; decorrido tal período, as taxas de crescimento desses dois folículos passam a diferir abruptamente, fenômeno conhecido como divergência (GINTHER et al., 1997). O período médio compreendido entre a emergência da onda folicular e a divergência é de aproximadamente 2,5 dias, durante os quais o FD e o maior fs crescem de 4mm até, respectivamente, cerca de 8,5mm e 7,5mm (GINTHER et al., 1997).

Em decorrência do fenômeno da divergência e do processo de seleção do FD, Ginther, Knopf e Kastelic (1989) entendem que, quando o maior folículo atinge diâmetro $\geq 8,5\text{mm}$, a concentração de FSH decresce e torna-se mais baixa do que aquela requerida pelo menor folículo - ou futuros fs -, mas não para o maior folículo ou FD. Aparentemente, no período compreendido entre a emergência da onda e a divergência, todos os folículos em crescimento contribuem para suprimir a onda de FSH (GIBBONS; WILTBANK; GINTHER, 1997), mas não está claro se a supressão é parte ou função do processo de divergência.

Os mecanismos envolvidos na divergência não estão definidos, mas parecem estar estreitamente associados à indução de receptores de LH nas células da granulosa, aumento nos níveis de estradiol (E_2) circulante e decréscimo do FSH no plasma (BEG et al., 2001; GINTHER, 2000; GINTHER et al., 1996).

Beg et al. (2001) compararam a divergência de diâmetro às mudanças do ácido ribonucléico mensageiro (mRNA) nos receptores de LH da célula da granulosa. O aumento da diferença de expressão do mRNA nos receptores de LH dos dois maiores folículos ocorreu, em média, 8h antes de qualquer aumento do diâmetro do folículo ou da concentração de E_2 no líquido folicular. Já Bodensteiner et

al. (1996) não avaliaram a divergência do diâmetro, mas relataram número de receptores de LH aproximadamente 3 vezes maior na célula da granulosa do maior folículo no segundo dia após a ovulação - média de 8,5mm – em relação ao do maior folículo no quarto dia após a ovulação - média de 13,0mm.

Xu et al. (1995) mostraram aumento no receptor mRNA de LH nas células da granulosa, de níveis não detectáveis no dia 2 - média de 6,7mm - para níveis altamente expressos no dia 4 - média de 10,8mm. Durante esse período, o receptor mRNA de LH nas células da teca aumentou mais de 4 vezes.

Ao avaliar a relação entre a divergência de diâmetro folicular e a responsividade ao LH de folículos *in vivo*, Sartori et al. (2001) constataram que o FD adquire a capacidade ovulatória logo após o início da divergência, capacidade esta que não existe antes da divergência e em folículos não dominantes. Assim, os autores concluíram que o FD adquire capacidade ovulatória após a divergência, o que confirma a inter-relação entre esta e o aumento da responsividade ao LH folicular. Portanto, e ainda de acordo com esses estudiosos, a divergência é um importante componente importante do crescimento contínuo do FD, e pode implicar no mecanismo de aquisição da responsividade ao LH envolvido na seleção do FD..

2.1.3 Eventos Endócrinos que ocorrem durante o Crescimento do Folículo Dominante

Com base em estudos relacionados às mudanças na secreção de esteróides e gonadotrofinas do FD e em informações constantes da literatura, Evans et al. (1997) propuseram um modelo que associa os eventos endócrinos ao crescimento do FD em bovinos. Em um ambiente com baixas concentrações circulantes de E₂ e P₄, a emergência da primeira onda de crescimento folicular é estimulada pelo

aumento da secreção de LH no dia 1 do ciclo estral (ADAMS et al., 1992; SUNDERLAND et al., 1994). À medida que o FD cresce, as concentrações periféricas de estrógenos e andrógenos aumentam, promovendo a retroalimentação negativa, que diminui a secreção de FSH; quando o E_2 atinge o pico - ao redor do dia 4 do ciclo estral -, o FD continua a crescer em ambiente basal de FSH (RHODES et al., 1995; SUNDERLAND et al., 1994). O aumento de P_4 no CL promove a diminuição das concentrações médias e da frequência dos pulsos de LH (BERGFELD et al., 1995), mas também aumenta a amplitude deste últimos.

O aumento de receptores de LH (XU et al., 1995) capacita o folículo a responder à alta amplitude dos pulsos desse hormônio - devido à baixa secreção de E_2 - e, assim, continuar a crescer. A secreção de FSH mantém-se baixa em consequência da secreção contínua dos andrógenos do FD. Durante a fase estática de crescimento - estabelecida ao redor do dia 8 do ciclo estral - a secreção de andrógenos decresce, facilitando o aumento da secreção de FSH, que estimula a emergência da segunda onda de crescimento folicular ao redor do dia 11 (GONG et al., 1995; SUNDERLAND et al., 1994). O aumento da secreção de E_2 - que, juntamente com o aumento da secreção de andrógenos deprime novamente a concentração de FSH circulante - reduz a amplitude dos pulsos de LH. Desta forma, as mudanças cíclicas nas concentrações de esteróides e gonadotrofinas mantêm o padrão de ondas foliculares até que ocorra a luteólise, e uma nova fase folicular seja estabelecida (EVANS et al., 1997).

2.2 FISIOLOGIA REPRODUTIVA EM *BOS TAURUS* E *BOS INDICUS*

A dinâmica folicular ovariana de fêmeas *Bos indicus* foi caracterizada pela presença de duas ondas foliculares em vacas (83,3%) e três ondas foliculares em novilhas (64,7%) da raça Nelore (FIGUEIREDO et al., 1997). Resultados similares também foram encontrados por Gambini et al. (1998) e Viana et al. (2000) em vacas da raça Gir. Tais padrões de crescimento folicular são similares àqueles descritos para *Bos taurus* (GINTHER; KASTELIC; KNOPF, 1989; KNOPF et al., 1989; SAVIO et al., 1988; SIROIS; FORTUNE, 1988). Em bovinos *Bos indicus*, Rhodes, Death e Entwistle (1995) e Viana et al. (2000) relataram a ocorrência de uma a quatro ondas foliculares novilhas Brahman e vacas Gir; respectivamente, com predominância de três ondas foliculares.

Apesar da semelhança de padrão de crescimento folicular entre *Bos indicus* e *Bos taurus*, têm sido identificadas importantes diferenças morfológicas e endócrinas, que podem influenciar as respostas aos protocolos de sincronização do cio (RANDEL, 1984).

Figueiredo et al. (1997) constataram que o diâmetro máximo do FD – de 10 a 12mm - observado em novilhas da raça Nelore, bem como a taxa de crescimento do folículo ovulatório e outros FDs - aproximadamente 0,92mm/dia - foram menores do que aqueles encontrados em raças européias. Por isso, concluíram que o menor tamanho dos FDs está diretamente relacionado à sua menor taxa de crescimento. O diâmetro médio do CL de vacas e novilhas Nelore determinado por ultra-sonografia é ligeiramente menor do que aqueles de bovinos europeus (*Bos taurus*). Tais resultados demonstram que, apesar do menor tamanho do FD e CL em *Bos indicus*,

a dominância folicular é similar àquela observada em *Bos taurus*. As diferenças no tamanho do CL, além de refletirem a diminuição dos níveis circulantes de P₄ em fêmeas zebuínas (SEGERSON et al., 1984), têm importantes implicações práticas, com a dificuldade de palpação.

O conhecimento do comportamento de cio e o intervalo cio/ovulação são parâmetros essenciais para estimar o melhor momento da IA em bovinos. Barros, Figueiredo e Pinheiro (1995) e Pinheiro et al. (1998) constataram que a duração do comportamento de cio (10h), e o intervalo entre o cio e a ovulação - aproximadamente 26h - são menores na raça Nelore do que nas raças européias. Além disso, os zebuínos têm alta incidência de cios noturnos, o que dificulta a detecção do estro e, conseqüentemente, prejudica a IA.

Randel (1984) realizou um estudo com novilhas Brahman, Hereford e seus cruzamentos, e constatou que as concentrações de LH durante o pico pré-ovulatório foram significativamente inferiores nas novilhas *Bos indicus* em relação às novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus* e às novilhas *Bos taurus*. Tais resultados sugerem que as fêmeas zebuínas têm menor capacidade de secreção de LH que aquelas de raças européias.

Há evidências de que as concentrações de insulina ovariana e o fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) diferem entre as subespécies. Em um estudo com novilhas Nelore, Buratini et al. (2000) observaram que o tratamento com somatotrofina bovina (BST) aumentou as concentrações de IGF-I no plasma e o número de pequenos folículos (<5mm), similarmente ao relatado por Gong et al. (1991) em *Bos taurus*. Entretanto, o aumento no número de folículos foi menor do que ocorreu em *Bos taurus*, sugerindo que o sistema IGF ovariano pode diferir entre *Bos taurus* e *Bos indicus*. O resultado desse estudo sustenta as observações de

Simpson et al. (1994), que registraram maior concentração de IGF-I e maior atividade das proteínas de ligação IGF (IGFBP) no plasma de vacas Brahman do que em vacas Angus. Além disso, a administração de insulina resultou no aumento das concentrações de IGF-I no líquido folicular de vacas Brahman, enquanto nenhum efeito foi observado em vacas Angus.

2.3 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO

O controle endógeno do ciclo estral e a sincronização do estro em bovinos envolvem a secreção inter-relacionada de hormônios hipotalâmicos, da hipófise anterior, dos ovários e do útero. O principal mecanismo de regulação do ciclo estral bovino é a regressão do corpo lúteo, que ocorre em fêmeas cíclicas normais ao redor do dia 17–18. Desta forma, o CL - considerado uma glândula endócrina temporária, com a função de produzir P_4 – constitui-se no elemento-chave de vários processos reprodutivos, incluindo a ovulação e a duração do ciclo estral (MILVAE et al., 1996).

As formas de controle do ciclo estral em bovinos são baseadas na extensão ou redução da fase luteínica - uso de progestágenos ou prostaglandinas - e na modificação dos padrões da onda folicular através da administração de E_2 ou hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). No entanto, ambos os métodos agem diretamente no estado funcional do CL e são limitados para produzir grau de sincronia ovariana perfeito. Além disso, apresentam variabilidade de respostas, que

estão sempre associadas à redução na taxa de fertilidade e ao aumento na duração do processo que, por sua vez, interferem na IATF (MACMILLAN; BURKE, 1996).

A prostaglandina $F_{2\alpha}$ tem sido apontada como o agente luteolítico naturalmente responsável pela regressão do CL. Sua ação no controle do ciclo estral e da ovulação se dá pela indução prematura da luteólise, com conseqüente queda nos níveis plasmáticos de P_4 (COOPER, 1974). Com efeito, a influência da retroalimentação negativa é suprimida, os níveis de LH elevam-se lentamente, a secreção de estrógenos pelo folículo maduro aumenta e induz a hipófise a liberar a onda pré-ovulatória de LH, que resulta no estro e na ovulação (KARSCH et al., 1979).

A descoberta do efeito luteolítico da PGF e seus análogos revolucionou os métodos de controle do ciclo estral em bovinos nos últimos anos (ODDE, 1990). Os estudos de Moody e Lauderdale (1977) mostram que a fertilidade é relativamente alta após a sincronização, e que as taxas de concepção de vacas e novilhas sincronizadas com PGF são similares, o que não ocorre com o estro natural. Aproximadamente 70% das vacas cíclicas manifestam cio com a administração de tratamento único com PGF, mas os melhores índices de sincronização são obtidos com protocolos em que duas doses são administradas em intervalo de 11 a 14 dias (BÓ, 2000). Embora a administração de PGF induza altas taxas de manifestação de estro em animais da raça européia - 70 a 90% (TANABE ; HANN, 1984) e 66 a 97% (LAVERDIERE et al., 1995) -, os resultados da aplicação desse hormônio nas raças zebuínas têm sido conflitantes. Em vacas das raças Nelore (CASTILHO; DAYAN; BARROS, 1997; FIGUEIREDO et al., 1997) e Gir (GAMBINI et al., 1998) foi observada baixa manifestação de estro (<50%) após tratamentos com PGF, mesmo na presença do CL funcional (PINHEIRO et al., 1998).

Uma das limitações da utilização da PGF é a baixa taxa de sincronização na indução do estro (TANABE; HANN, 1984). O tempo decorrido entre a aplicação e a manifestação de estro em bovinos varia de acordo com o estágio de desenvolvimento folicular no momento da administração da PGF (KASTELIC; KNOPF; GINTHER, 1990). Essa variação está relacionada ao fato de que, quando a PGF é administrada nos dias 6 a 7 do ciclo estral, a maturação e a ovulação do FD da primeira onda folicular são rápidas enquanto que, quando é administrada após o dia 11 do ciclo, são necessários 3 a 5 dias para que ocorra a seleção e a maturação de um novo folículo, resultando em um intervalo maior entre o tratamento e a ovulação. Assim, os resultados de Kerr et al. (1991), juntamente com os relatos acima mencionados, não recomendam o uso de um protocolo padrão de sincronização do estro com duas aplicações de PGF em novilhas *Bos indicus* manejadas extensivamente, com o objetivo de realizar a IATF.

2.3.1 Tratamentos com GnRH e PGF

A combinação dos tratamentos com GnRH e PGF é um método prático de controle das funções ovarianas e luteínicas, e tem sido usada com êxito nos protocolos de sincronização para IA em bovinos de leite e de corte (PURSLEY; KOSOROK; WILTBANK, 1997; TWAGIRAMUNGU et al., 1995).

Pursley, Mee e Wiltbank (1995) desenvolveram um protocolo experimental denominado *Ovsynch* (GnRH - PGF - GnRH) para sincronizar a ovulação de vacas leiteiras, possibilitando a IA sem a necessidade de detecção do cio. O tratamento com GnRH - administrado em estágio aleatório do ciclo estral - induz a ovulação - fase de crescimento e estática - ou a atresia do FD e sincroniza a emergência da

onda folicular (MACMILLAN; THATCHER, 1991; THATCHER et al., 1989). A administração de PGF 7 dias após a aplicação do GnRH induz a regressão luteínica do CL e conduz à maturação final do FD sincronizado (SCHMITT et al., 1996). Alguns animais apresentam cio no intervalo entre as aplicações de GnRH e PGF, mas na grande maioria (60 a 70%) dos casos o cio é detectado nos 4 dias após a administração de PGF (TWAGIRAMUNGU et al., 1995). A sincronização do cio e particularmente da ovulação pode ser consideravelmente aumentada (>90%) pela administração de uma segunda aplicação de GnRH 36 a 48 h após a PGF, e a fertilidade dos animais inseminados em tempo pré-determinado - 16 a 24h após a aplicação do GnRH - é semelhante àquela observada em animais inseminados no cio observado (PURSLEY; MEE; WILTBANK, 1995; PURSLEY; KOSOROK; WILTBANK, 1997), mas em novilhas a IATF não tem sido efetiva (PURSLEY et al., 1997a).

Burke et al. (1996) compararam de eficácia entre a IATF e a IA com detecção do cio em vacas multíparas, usando a combinação GnRH e PGF. As taxas de concepção foram notavelmente mais altas para as vacas inseminadas no cio detectado (41,5%) do que naquelas submetidas à IATF (26,5%). Entretanto, dada a proporção mais baixa de vacas detectadas em cio, as taxas de prenhez foram similares: 30,5% após a IA no cio detectado e 30,9% para a IATF. Os dias abertos foram menores para as vacas da IATF (79,2 dias; $P < 0,07$) - que conceberam até 120 dias pós-parto -, do que para as vacas inseminadas no cio detectado (83,6 dias). Assim, o protocolo GnRH-PGF tem aumentado as taxas de prenhez através do aumento do número de vacas inseminadas, enquanto as taxas de concepção no mesmo período não têm mostrado o mesmo aumento (PURSLEY et al., 1997; PURSLEY; KOSOROK; WILTBANK, 1997).

De acordo com Moreira et al. (2000), o dia do ciclo estral em que o protocolo *Ovsynch* é iniciado afeta o programa de sincronização e pode influenciar as subseqüentes taxas de prenhez - o que pode ser comprovado pelos índices de ovulação de 0%, 100%, 25%, 60% e 100%, respectivamente, para protocolos iniciados nos dias 2, 5, 10, 15 e 18 do ciclo -, que também são dependentes do estágio de desenvolvimento do FD quando o GnRH é aplicado. Os resultados obtidos por esses autores estão em concordância com aqueles de um experimento em campo, em que as taxas de prenhez obtidas à IA em vacas tratadas com GnRH durante os três primeiros dias ou após o 13º dia do ciclo estral foram mais baixas do que aquelas de vacas tratadas durante a fase luteínica (VASCONCELOS et al., 1997). Em estudo subseqüente, cujo objetivo também era avaliar a eficácia do protocolo *Ovsynch* em vacas leiteiras de alta produção, Vasconcelos et al. (1999) complementaram as observações anteriores mas observaram que, embora a administração do GnRH no início do ciclo resulte em taxas de sincronização mais altas, animais tratados na metade do ciclo apresentaram maiores taxas de prenhez à IA que aqueles tratados no início do ciclo. É possível que, próximo à metade do ciclo e na presença de grandes folículos, ocorra a perda funcional destes, com aumento das concentrações de FSH circulante e emergência de uma nova onda folicular (GINTHER et al., 1996).

Recentemente, Cordoba e Fricke (2002) avaliaram os efeitos do protocolo *Ovsynch* sobre o desempenho reprodutivo de vacas leiteiras (n= 228) em sistema de pastagem semi-sazonal submetidas à IA 23 dias depois do início da estação de monta, seguida por serviço natural. Os resultados das taxas de prenhez cumulativas do serviço natural e *Ovsynch* não diferiram estatisticamente após 23 dias (47,3 x 46,3%) e 120 dias da IA (80,5 x 83,3%), respectivamente, indicando que o

tratamento com GnRH e PGF não sincronizou efetivamente a função ovariana de vacas leiteiras em lactação sob sistema de manejo a pasto.

O protocolo *Ovsynch* também tem sido usado no controle do desenvolvimento folicular e na sincronização da ovulação em *Bos indicus* (BARROS et al., 2000). Foi observada uma nova onda folicular $1,8 \pm 0,3$ dias após a primeira aplicação de GnRH em 19/24 vacas, e a sincronização da ovulação após a segunda aplicação do GnRH em 15/17 vacas. As taxas de prenhez após a IATF não diferiram daquelas relatadas em *Bos taurus*, variando entre 42 e 48% (FERNANDES et al., 2001; WILLIAMS et al., 2002). Como ocorre em *Bos taurus*, as taxas de prenhez em novilhas *Bos indicus* variaram entre 21 e 43% (BARROS; MOREIRA; FERNANDES, 1998; WILLIAMS et al., 2002), e aquelas de vacas em anestro foram significativamente mais baixas (14,9%) do que as de vacas cíclicas (46,3%; FERNANDES et al., 2001). A razão para essa baixa resposta em novilhas pode ser a baixa incidência da ovulação do FD após a primeira aplicação do GnRH, que resulta em pequena sincronização do cio após a segunda aplicação do GnRH (MARTINEZ et al., 1999). Já Williams et al. (2002) relataram que 28,9% das novilhas *Bos indicus* tratadas com *Ovsynch* exibiram cio natural entre a primeira aplicação de GnRH e o momento designado para a IATF, sugerindo que o desenvolvimento folicular em novilhas ocorre rapidamente.

2.3.2 Tratamentos com Progestágeno/Progesterona e Estradiol

As tentativas iniciais para sincronizar o cio em bovinos usando progestágenos (TRIMBERGER; HANSEL, 1955) baseavam-se no conhecimento de que a progesterona previne a ocorrência de cio e a ovulação (CHRISTIAN; CASIDA,

1948). O estradiol foi inicialmente incorporado a esses tratamentos para promover a regressão luteínica (WILTBANK; KASSON, 1968). Entretanto, após a caracterização da PGF como a luteolisina natural em ruminantes e o desenvolvimento de análogos, esta tornou-se o agente luteolítico preferido (LAUDERDALE, 1972), apresentando respostas mais consistentes do que aquelas obtidas com o estradiol (LEMON, 1975). Recentemente, o estradiol tem sido reconhecido pela sua capacidade de induzir a atresia dos folículos ovarianos (BÓ et al., 1995; RAJAMAHENDRAN; MANIKKAN, 1994), daí o seu potencial em reverter a fertilidade quando associado a tratamentos com progesterona que, por outro lado, promove o crescimento e a ovulação dos folículos envelhecidos (MIHM et al., 1994; SAVIO et al., 1993a; STOCK ; FORTUNE, 1993).

Está bem documentado que o E_2 endógeno produzido pelos folículos ovarianos acentua a amplitude dos pulsos de LH durante a fase folicular do ciclo estral através do aumento de receptores do hormônio liberador de LH (LHRH) (abreviatura) na pituitária anterior e do conseqüente aumento da capacidade estrogênica dos folículos pré-ovulatórios (STUMPF et al., 1989). Esse mecanismo de retroalimentação positiva entre o E_2 e o LH é crítico no processo de maturação final, na capacitação do folículo ovulatório, na ovulação, e facilita a expressão do comportamento de cio, em sincronia com a ovulação (FIKE et al., 1997).

Visto que a maturação do folículo durante o proestro ocorre quando as concentrações de P_4 no plasma são inferiores a 1ng/ml, a baixa fertilidade associada ao sistema de sincronia decorrente do prolongamento da fase de diestro, provavelmente seja devida ao período de dominância e persistência do folículo (STOCK ; FORTUNE, 1993). Vários relatos têm mostrado que a maturação dos folículos antrais ovarianos depende da secreção de gonadotrofinas. Desta forma, a

redução na frequência da liberação pulsátil de LH durante a metade da fase luteínica do ciclo (RAHE et al., 1980) - entre outros fatores - é a responsável pela continuação do desenvolvimento do primeiro FD durante o ciclo estral (SAVIO et al., 1993a). Em contraste, períodos prolongados de concentrações subluteínicas de P_4 mantêm o crescimento do FD, com produção prolongada de E_2 e fertilidade reduzida (MIHM et al., 1994).

A concentração artificialmente elevada de P_4 limita o crescimento folicular (TAYLOR; RAJAMAHENDRAN, 1994) e pode causar atresia do folículo persistente (STOCK ; FORTUNE, 1993). Neste caso, o mecanismo de retroalimentação do E_2 e da P_4 sobre a secreção de LH pode ser diferente. No entanto, quando administrados em combinação, o E_2 intensifica a capacidade da P_4 na supressão do LH circulante (STUMPF et al., 1993). Os resultados obtidos por Burke, Macmillan e Boland (1996) em investigação sobre a retroalimentação interativa da P_4 e do benzoato de estradiol (BE) na liberação de gonadotrofinas corroboram essas observações, e revelam que a elevação da P_4 no plasma - resultante da inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) - induz a supressão transitória de LH por aproximadamente 48h, e a inserção intravaginal do BE potencializa o efeito da P_4 , prolongando o período de supressão do LH. Após a remoção do CIDR, a subsequente recuperação do LH coincide com o declínio das concentrações da P_4 .

Há poucas informações disponíveis sobre as mudanças na liberação pulsátil do LH e na secreção do E_2 resultantes do aumento ou do declínio nas concentrações de P_4 circulante em bovinos. É provável que a ação da P_4 em modular a frequência da liberação pulsátil do LH ocorra no “pulso gerador” do LHRH no hipotálamo. Estudos prévios em ovelhas demonstraram que a frequência de liberação do LHRH na veia porta é reduzida pelo efeito da administração da P_4

(KARSCH et al., 1987), e que a P_4 tem um efeito inibidor direto E_2 -dependente na liberação do LH, sendo que o E_2 também pode intensificar a resposta da pituitária ao LHRH (GIRMUS; WISE, 1992). Já na espécie bovina, Bergfeld et al. (1996) relatam que as mudanças nas concentrações da P_4 circulante - baixa x alta concentração e vice-versa - resultam em mudança abrupta na liberação pulsátil do LH e na secreção do E_2 . Isto evidencia a sensibilidade seletiva de comunicação entre as concentrações de P_4 circulante e o número dos pulsos de LH na pituitária anterior, sugerindo que essa comunicação no “pulso gerador” hipotalâmico do LHRH precede as mudanças no número de pulsos de LH. Estas, por sua vez, resultam do aumento da capacidade estrogênica dos folículos ovarianos. Portanto, a alteração na concentração da P_4 acelera a cascata de eventos, culminando com a inibição ou intensificação do LH que modula a liberação pulsátil do LH na pituitária anterior e, por conseguinte, a função folicular, assim representada pelo aumento do E_2 .

BÓ et al. (1995) relatam que, em bovinos que receberam implante de progestágenos, a administração de 5mg de 17β -estradiol ($E-17\beta$) sincroniza a emergência de uma nova onda folicular $4,3 \pm 0,2$ dias depois. Outros estudos avaliaram o efeito de diferentes ésteres de estradiol no desenvolvimento da onda folicular. Em novilhas de corte, o valerato de estradiol – VE – (BÓ et al., 1993) em uma dose de 5mg resulta em menor previsibilidade na emergência da onda. Entretanto, a administração de uma dose de 2mg de EB em combinação com 50mg de P_4 via intramuscular (i.m.) resulta na emergência de uma nova onda folicular em $4,0 \pm 0,2$ dias, com variação de 4–5 dias (MORENO et al., 2001).

O uso de estrógeno como agente luteolítico, em associação com progestágeno sintético, resultou em dois tipos de produtos comerciais: o Sincro-Mate B (SMB, Merial) – que contém 6mg de norgestomet (WILTBANK et al., 1971) - e o

Crestar (Intervet) – que contém 3mg de norgestomet. Embora as doses de norgestomet desses produtos sejam distintas, a sua liberação na circulação é similar; apenas a composição química do implante é diferente nos dois produtos. Quando colocados subcutaneamente na orelha por nove dias, tais implantes exercem um efeito progestacional sobre o trato reprodutivo e o hipotálamo, suprimindo o comportamento de cio e a ovulação. Ambos os produtos vêm acompanhados de uma injeção i.m. de 5mg de valerato de estradiol e 3mg de norgestomet que, administrada no momento da inserção do implante, sincroniza o comportamento de cio em 85–95% dos animais tratados (MOFFAT et al., 1993).

No entanto, ainda que os sistemas de sincronização à base de progestágenos tenham sido muito usados, e tenham proporcionado controle satisfatório do ciclo estral em bovinos, a fertilidade do cio sincronizado tem sido muito baixa, com taxas de concepção que variam entre 33 e 68% (ODDE, 1990). De acordo com Kinder et al. (1996), a redução de fertilidade decorrente do uso de progestágenos em concentrações normalmente usadas para a sincronização do cio tem sido atribuída ao desenvolvimento anormal do oócito. Além disso, quando os progestágenos são administrados na ausência de um CL funcional, ocorrem aumento na frequência de liberação do LH, prolongado aumento nas concentrações periféricas de E_2 e conseqüente desenvolvimento do folículo ovariano persistente (SAVIO et al., 1993b).

A baixa fertilidade associada ao tratamento norgestomet/VE, de acordo com Cavalieri et al. (1997), pode ser atribuída às altas concentrações de $E-17\beta$ durante o tratamento e antes da ovulação. É possível que os níveis de E_2 induzido pela injeção de norgestomet/VE sejam significativamente mais altos em novilhas *Bos indicus* mais leves, manejadas em pastagem subtropical/tropical, do que em novilhas *Bos*

taurus mais pesadas, manejadas em pastagem de boa qualidade em regiões temperadas, ou alimentadas com concentrado. Recentemente, Baruselli, Madureira e Marques (2001) mostraram que a substituição da injeção de norgestomet/VE por BE de curta duração, combinado a 50mg de P₄ no momento da inserção do Crestar, resultou em taxas mais altas de prenhez em novilhas cruzadas *Bos indicus* x *Bos taurus*, que foram à IATF 54h após a remoção do implante.

Uma abordagem alternativa para melhorar a fertilidade do cio sincronizado é estimular o crescimento folicular após a retirada do progestágeno. Em estudo realizado por Cavalieri et al. (1997), a sincronia do cio, a ovulação e a onda pré-ovulatória de LH foram maiores - após a remoção do implante - em vacas *Bos indicus* não lactantes tratadas com gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) do que naquelas não tratadas com eCG. Entretanto, outros tratamentos, como a adição de 1mg de BE 24h ou GnRH 30–36h após a remoção do implante, também têm mostrado sincronizar a ovulação e aumentar as taxas de prenhez em vacas *Bos indicus* (BÓ; CUTAIA; TRIBULO, 2002).

2.3.3 Dispositivo Vaginal de Progesterona e Benzoato de Estradiol

Os avanços adicionais decorrentes do uso da P₄ coincidiram com o desenvolvimento do teste sistemático do dispositivo de liberação interna da P₄ (PRID – *Progesterone Releasing Intravaginal Device*; WEBEL, 1976). Esse dispositivo, que contém 1,55g de P₄, pode ser usado sozinho ou em combinação com BE ou PGF (ROCHE, 1974; ROCHE; IRELAND, MAWHINNEY, 1981), com a finalidade de manter as concentrações médias de P₄ no plasma e para suprimir a liberação do LH endógeno.

Macmillan et al. (1991) desenvolveram o sistema chamado CIDR (CIDRTM - *Controlled Internal Drug Release*), que consiste em um dispositivo intravaginal contendo 1,9g de P₄, e uma cápsula de gelatina contendo 10mg de BE inserida junto com o dispositivo intravaginal. Segundo os autores, a quantidade de P₄ liberada pelo dispositivo é altamente predizível, com valores médios nas concentrações de P₄ no plasma em torno de 5–6ng/ml e conteúdo médio de P₄ residual de 0,92g. Esse sistema associa os efeitos da P₄ na inibição da frequência dos pulsos de LH – que resulta no cio e na ovulação - aos efeitos do estrógeno como agente luteolítico - capaz de sincronizar a emergência de uma nova onda folicular (ADAMS, 1994). Assim, a utilização do CIDR proporciona a oportunidade de estudar, com exatidão, os fatores que influenciam o metabolismo da P₄ em animais a campo, expostos a variações das condições fisiológicas e ambientais (MACMILLAN; PETERSON, 1993).

A maioria dos protocolos de sincronização do cio/ovulação usados em *Bos taurus* é similar àqueles aplicados em *Bos indicus* e respectivos cruzamentos para leite e carne. O tratamento consiste na administração de 2mg de BE i.m. em vacas e novilhas no momento da inserção do CIDR, administração de uma dose de PGF na remoção do dispositivo e 1mg de BE 24h após a administração da PGF. Os animais são submetidos à IATF entre 52 e 56h após a remoção do CIDR (BÓ et al., 1996; CAVALIERI et al., 2002).

O método original de sincronização do cio/ovulação de Macmillan e Peterson (1993) consiste na inserção de uma cápsula de gelatina contendo 10mg de BE na vagina, juntamente com o dispositivo. Durante o período inicial desse método, uma série de experimentos realizados para avaliar a eficácia do uso do dispositivo CIDR em bovinos mostrou alto grau de sincronia quando o BE foi usado em combinação

ao CIDR por 9 ou 10 dias. Os experimentos a campo de Macmillan e Burke (1996) confirmam que o estradiol altera o padrão de sincronia do cio e a fertilidade após os tratamentos com a P₄ intravaginal. Reciprocamente, a investigação de Burke, Macmillan e Boland (1996) avaliou o efeito da retroalimentação interativa da P₄ e do BE sobre a secreção de gonadotrofinas; os resultados revelaram que a inclusão intravaginal do BE potencializa o efeito da P₄ na supressão do LH.

Estudos subseqüentes mostram que a administração do BE i.m. resulta na emergência mais consistente e sincrônica da onda folicular (BÓ et al., 1996). Embora o segundo tratamento com 1mg de BE i.m. tenha sido essencial, Lemaster et al. (1999) constataram cio/ovulação mais sincrônico e com altas taxas de prenhez do que quando o BE não foi administrado após a remoção do dispositivo. Os resultados de um experimento envolvendo novilhas cruzadas *Bos indicus* também mostraram que a inserção do CIDR por um período de 8 dias apresenta tendência ($P < 0,08$) a produzir taxas de prenhez mais altas em comparação aos tratamentos de 7 dias (8 dias: 54,1%; 40/74 x 7 dias: 39,4%; 28/71 - COLAZO et al., 1999). Desta forma, o tratamento com BE no momento da inserção do dispositivo com P₄ é essencial para induzir a regressão do FD e a emergência de uma nova onda folicular, prevenindo os efeitos adversos de um FD persistente sobre as taxas de prenhez.

A variabilidade das respostas em termos de taxas de prenhez tem sido um dos problemas associados aos protocolos de sincronização do cio/ovulação. Com a utilização do esquema de sincronização de retorno ao cio proposto por Macmillan (1999), foi possível obter taxas de prenhez de 48,3% na primeira IA e de 76,6% na segunda IA, podendo ainda atingir 84,8% em uma terceira IA. Esse procedimento consiste em reimplantar nas fêmeas bovinas, duas semanas após a IA, CIDR

previamente utilizado. Uma dose de 1,0mg de BE é administrada no momento da inserção do CIDR e outra dose mais baixa (0,5ml) de BE é administrada 7 dias depois, quando da remoção do dispositivo. Os animais são inseminados à medida em que forem sendo detectados em cio.

Vários experimentos têm sido conduzidos para avaliar a eficácia da re-sincronização do cio/ovulação nos programas de IATF (CUTAIA et al., 2001; MACMILLAN; PETERSON, 1993; WHITTAKER et al., 2002). Interessantes são os resultados obtidos por Bó et al. (2002) que, trabalhando com novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus* tratadas com dispositivos novos ou usados, não observaram efeito significativo de raça ($P>0,37$) no intervalo de emergência da onda folicular - Brangus $3,3 \pm 0,6$ dias x Angus $4,3 \pm 0,2$ dias. Embora a emergência da onda tenha sido menos variável nas novilhas tratadas com dispositivo novo do que naquelas que receberam dispositivo usado, não houve efeito significativo do tratamento no momento e na distribuição da ovulação. Os resultados sugerem que tanto o dispositivo novo quanto o usado podem ser utilizados para induzir uma ovulação sincrônica em novilhas *Bos taurus* ou novilhas cruzadas *Bos indicus*. Além disso, segundo Whittaker et al. (2002), tais resultados têm importante implicação econômica em virtude da considerável redução de custos dos dispositivos nos tratamentos de IATF.

Em bovinos, a principal causa de infertilidade é o anestro pós-parto. Nesse sentido, existem vários aspectos da fisiologia reprodutiva que alteram o metabolismo de vacas leiteiras de alta produção. Em bovinos de corte, o anestro pós-parto tem-se constituído em uma condição fisiológica natural, induzido pelo efeito da amamentação, e está intimamente relacionado às condições nutricionais. Ambas as situações fisiológicas interferem no sucesso da aplicação da IA em bovinos.

Uma alternativa para aumentar as taxas de prenhez nos programas de IATF de bovinos em anestro pode ser a adição de 300–500 unidades internacionais (UI) de eCG no momento da remoção do dispositivo de liberação da P₄ (MACMILLAN; PETERSON, 1993; ROCHE; CROWE; BOLAND, 1992). Os resultados dos experimentos de Macmillan e Burke (1996) mostram que aproximadamente 90% das vacas em anestro tratadas com P₄ seguida de uma dose de 1,0mg de BE i.m. podem ser detectadas em cio e inseminadas em um período de 4 dias. As análises de P₄ no leite também mostram que 95% das vacas inseminadas ovularam no período de cio. Esses dados sugerem que o anestro de vacas com condição corporal pouco satisfatória no início do pós-parto pode ser beneficiado com o uso do eCG em associação ao tratamento de P₄ intravaginal (ROCHE; CROWE; BOLAND, 1992).

Cutaia et al. (2003) avaliaram o efeito do eCG no momento da remoção do dispositivo de P₄ em vacas no pós-parto. Com base nos resultados desse estudo, os autores concluíram que a aplicação de uma dose de 400UI de eCG no dia 8 do tratamento aumentou significativamente a taxa de prenhez, em rebanhos com alta porcentagem de anestro ou em vacas com baixo escore corporal. Entretanto, a utilização do eCG sem a combinação de BE como indutor da ovulação resultou em baixa porcentagem de prenhez. Similarmente, Baruselli et al. (2003) avaliaram o efeito dos tratamentos com BE ou eCG + BE em vacas Nelore mantidas em pastagem. A taxa de prenhez foi mais alta ($P < 0,05$) no grupo eCG do que no grupo BE, e o efeito positivo do eCG aumentou em relação direta com o grau de anestro. Em contraste, nos animais cíclicos - com CL funcional - não foi observado qualquer efeito aparente do tratamento com eCG. Assim, os resultados indicam que o tratamento com eCG aumenta a eficiência da IATF em animais com baixa

porcentagem de ciclicidade, o que é freqüentemente observado em fêmeas *Bos indicus* sob condições tropicais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 EXPERIMENTO 1 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS NELORE (*BOS INDICUS*), NELORE X ANGUS (*BOS INDICUS* X *BOS TAURUS*) E ABERDEEN ANGUS (*BOS TAURUS*)

3.1.1 Animais e Local do Experimento

Foram utilizadas 37 novilhas cíclicas, 12 da raça Nelore, 13 Nelore x Angus e 12 da raça Aberdeen Angus, de 20 a 24 meses de idade, com peso médio de $382,3 \pm 6,9\text{kg}$, $429,8 \pm 17,3\text{kg}$ e $378,2 \pm 14,8\text{kg}$, respectivamente. Os animais pertenciam à Fazenda Ponte Nova, localizada no município de São Luiz do Paraitinga (Vale do Paraíba – SP). O experimento foi realizado durante os meses de abril e maio de 2003.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos em condição padrão de manejo a pasto (*Brachiaria decumbens*) e receberam suplementação de concentrado com 18% de proteína bruta – PB - (2,5kg/dia). A mineralização foi feita com misturas comerciais e fornecida *ad libitum* em cochos localizados no pasto. Antes da realização do experimento, as 37 novilhas foram submetidas a um período de 30 dias de adaptação ao manejo e à alimentação a que seriam submetidas durante a fase experimental (Figura 1).

a) Novilhas Nelore (*Bos indicus*)

b) Novilhas Nelore x Angus (*Bos indicus* x *Bos taurus*)

c) Novilhas Angus (*Bos taurus*)

d) Novilhas submetidas ao mesmo manejo

Figura 1 – Animais do Experimento 1.

3.1.2 Delineamento Experimental

Para este experimento foi utilizado um delineamento experimental em blocos casualizados, num arranjo de tratamentos fatorial 3 x 2. O esquema fatorial de tratamentos foi composto por três raças - Nelore, Nelore x Angus e Angus - e dois tratamentos hormonais - com e sem PGF.

3.1.3 Tratamento hormonal

As novilhas foram selecionadas por ultra-sonografia, e somente aquelas que apresentaram ciclicidade - presença de CL - foram utilizadas. Os animais selecionados foram divididos em seis grupos experimentais, a saber: Grupo 1) Nelore com PGF no dia (D) 0 (N-cPGF) - n=6, Grupo 2) Nelore sem PGF no D0 (N-sPGF) - n=6; Grupo 3) Nelore x Angus com PGF no D0 (NxA-cPGF) - n=6; Grupo 4) Nelore x Angus sem PGF no D0 (NxA-sPGF) - n=7; Grupo 5) Angus com PGF no D0 (A-cPGF) - n=6; e Grupo 6) Angus sem PGF no D0 (A-sPGF) - n=6 -, conforme esquematizado nas Figuras 2 e 3.

Antes do tratamento intravaginal com progesterona, todas as novilhas receberam duas aplicações sequenciais de PGF com 12 dias de intervalo (Figuras 2 e 3). O tratamento foi iniciado 12 dias após a última aplicação de PGF (D0).

No D0 cada animal recebeu um dispositivo intravaginal contendo 1,9g de progesterona (CIDR-B[®] InterAg – Hamilton, Nova Zelândia), que foi mantido por oito dias (D8), e 2mg de benzoato de estradiol via i.m. (Index Farmacêutica - São Paulo, SP), sendo que a metade das novilhas de cada grupo recebeu uma dose de 25mg do análogo PGF via i.m. (Lutalyse[®] Dinoprost, Rhodia-Mérieux Veterinária Ltda. –

Paulínia, SP) no momento da inserção do dispositivo intravaginal (Figura 2). Uma outra dose de 25mg do análogo PGF foi administrada via i.m. a cada animal no momento da retirada do dispositivo intravaginal, e 1mg de benzoato de estradiol foi aplicado, também via i.m., 24h depois da administração da PGF - D9 (Figuras 2 e 3).

Figura 2 – Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e de prostaglandina no D8, em novilhas Nelore (N-sPGF; n=6), Nelore x Angus (NxA-sPGF; n=7) e Angus (A-sPGF; n=6). Pindamonhangaba (SP), 2003.

Figura 3 – Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e prostaglandina no D0 e no D8, em novilhas Nelore (N-cPGF; n=6), Nelore x Angus (NxA-cPGF; n=6) e Angus (A-cPGF; n=6). Pindamonhangaba (SP), 2003.

3.1.4 Ultra-sonografia e Dinâmica Folicular

Para o estudo da dinâmica folicular, todas as novilhas foram submetidas a exames ultra-sonográficos transretais, realizados pelo mesmo operador. Foi utilizado aparelho de ultra-som Scanner 100 Vet (Pie Medical Equipament B.V. - Maastricht, Holanda), equipado com transdutor linear de 6,0 e 8,0MHz de frequência acoplado à impressora (Vídeo Printer, Mitsubishi - Japão).

Os exames foram iniciados no momento da inserção do implante (D0) e repetidos em intervalos de 24h durante a permanência deste, e em intervalos de 12h após a sua remoção (Figura 4). A imagem adequada do ovário foi congelada no monitor, para medição do tamanho e registro do número de folículos. O momento da ovulação foi definido pelo desaparecimento do folículo dominante presente no exame anterior, seguido pela formação de um corpo lúteo na mesma posição. O momento do início da onda de crescimento folicular foi determinado pelo aparecimento sincrônico de um grupo de folículos antrais >2mm de diâmetro. A taxa de crescimento (mm/dia) foi calculada pela diferença entre o diâmetro mínimo (>2mm) e o diâmetro máximo (D10), dividida pelo período de crescimento (FIGUEIREDO et al., 1997).

Figura 4 – Desenho esquemático dos exames ultra-sonográficos. Pindamonhangaba (SP), 2003.

3.1.5 Colheita de Sangue para Dosagem Hormonal

Para avaliação das concentrações séricas de progesterona foram colhidas amostras de sangue da coccígea média por venopunção, em tubos vacuntainer. As amostras (10ml) foram centrifugadas por 3 minutos a 2000 giros, para a separação do soro; em seguida, foram acondicionadas em frascos previamente rotulados e conservadas em freezer a -20°C.

Para a dosagem de progesterona, as amostras foram colhidas no momento da inserção do dispositivo vaginal P₄ (D0) e em dias seqüentes, conforme protocolo apresentado na Figura 5.

As concentrações séricas de progesterona foram determinadas com o auxílio de *kits* comerciais de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count DPC, *Diagnostic Products Corporation* - Los Angeles, USA) em 100µL de amostra em duplicata, de acordo com as recomendações do fabricante. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Dosagens Hormonais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), localizado em São Paulo (SP). A sensibilidade do teste foi de 0,07ng/ml, e os coeficientes de variação intra e interensaio foram inferiores a 10%.

Figura 5 – Protocolo para colheita de sangue para dosagem de progesterona. Pindamonhangaba (SP), 2003.

3.2 EXPERIMENTO 2 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS GIR (*BOS INDICUS*), GIR X HOLANDÊS PRETO E BRANCO - HPB - (*BOS INDICUS* X *BOS TAURUS*) E HPB (*BOS TAURUS*)

3.2.1 Animais e Local do Experimento

Foram utilizadas 33 novilhas cíclicas, 11 da raça Gir, 12 Gir x HPB e 10 da raça HPB, de 24 a 28 meses de idade, com peso médio de $375,3 \pm 21,4$ kg, $415,0 \pm 33,1$ kg e $439,2 \pm 21,7$ kg, respectivamente. O experimento foi desenvolvido nas dependências do Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba, com sede em Pindamonhangaba (SP), durante os meses de outubro e novembro de 2003.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos em condição padrão de manejo a pasto (*Brachiaria decumbens*) e receberam suplementação de silagem de sorgo com 18% de PB (2,5kg/dia de concentrado). A mineralização foi feita com misturas comerciais e fornecida *ad libitum* em cochos localizados no pasto, misturada no volumoso na proporção de 50g/UA. Antes da realização do experimento, as 33 novilhas foram submetidas a um período de 30 dias de adaptação ao manejo e à alimentação a que seriam submetidas durante a fase experimental (Figura 6).

a) Novilhas Gir (*Bos indicus*)

b) Novilhas girolando (*Bos indicus* x *Bos taurus*)

c) Novilhas Holandesas (*Bos taurus*)

d) Novilhas submetidas ao mesmo manejo

Figura 6 – Animais do Experimento 2.

3.2.2 Delineamento Experimental

Para este experimento foi utilizado um delineamento experimental em blocos casualizados em um arranjo de tratamentos fatorial 3 x 2. O esquema fatorial de tratamentos foi composto por três raças (Gir, Gir x HPB e HPB) e dois tratamentos hormonais (com e sem PGF).

3.2.3 Tratamento Hormonal

As novilhas foram selecionadas por ultra-sonografia, e somente aquelas que apresentaram ciclicidade - presença de CL - foram utilizadas. Após a seleção, as novilhas foram divididas em 6 grupos experimentais, a saber: Grupo 1) Gir com PGF no D0 (G-cPGF) - n=5; Grupo 2) Gir sem PGF no D0 (G-sPGF) - n=6; Grupo 3) Gir x HPB com PGF no D0 (GxHPB-cPGF) - n=6; Grupo 4) Gir x HPB sem PGF no D0 (GxHPB-sPGF) - n=6; Grupo 5) HPB com PGF no D0 (HPB-cPGF) - n=5; e Grupo 6) HPB sem PGF no D0 (HPB-sPGF) - n= 5 -, conforme esquematizado nas Figuras 7 e 8.

Antes do tratamento intravaginal com progesterona, todas as novilhas receberam duas aplicações sequenciais de PGF com 12 dias de intervalo (Figuras 7 e 8). O tratamento foi iniciado 12 dias após a última aplicação de PGF (D0).

No D0 cada animal recebeu um dispositivo intravaginal contendo 1,9g de progesterona (CIDR-B[®] InterAg – Hamilton, Nova Zelândia), que foi mantido por oito dias (D8), e 2mg de benzoato de estradiol via i.m. (Index Farmacêutica - São Paulo, SP), sendo que a metade das novilhas de cada grupo recebeu uma dose de 25mg do análogo PGF via i.m. (Lutalyse[®] - Dinoprost, Rhodia-Mérieux Veterinária Ltda –

Paulínia, SP) no momento da inserção do dispositivo intravaginal (Figura 7). Uma outra dose de 25mg do análogo PGF foi administrada via i.m. a cada animal no momento da retirada do dispositivo intravaginal, e 1mg de benzoato de estradiol foi aplicado, também via i.m., 24h depois da administração da PGF (Figuras 7 e 8).

Figura 7 – Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e de prostaglandina no D8, em novilhas Gir (G-sPGF; n=6), Girolando (GxHPB-sPGF; n= 6) e Holandês Preto e Branco (HPB-sPGF; n=5). Pindamonhangaba (SP), 2003.

Figura 8 – Protocolo hormonal com emprego do dispositivo intravaginal CIDR associado à aplicação de benzoato de estradiol (D0 e D9) e de prostaglandina no D0 e D8, em novilhas Gir (G-cPGF; n=5), Girolando (GxHPB-cPGF; n=6) e Holandês Preto e Branco (HPB-cPGF; n=5). Pindamonhangaba (SP), 2003.

3.2.4 Ultra-sonografia e Dinâmica Folicular

Foi utilizada a mesma metodologia do Experimento 1, explicitada no subitem 3.1.4 e ilustrada da Figura 4.

3.2.5 Colheita de Sangue para Dosagem Hormonal

Foi utilizada a mesma metodologia do Experimento 1, explicitada no subitem 3.1.5 e ilustrada na Figura 5.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados pelo programa *SAS System for Windows* (SAS Institute Inc. - Cary, NC, USA, 2000).

Com o auxílio do aplicativo *Guided Data Analysis*, as variáveis quantitativas foram testadas quanto à normalidade dos resíduos e à homogeneidade das variâncias. Caso não obedecessem a essas premissas, eram transformadas - logaritmo na base 10 ($\log_{10}x$); Raiz quadrada (RQ x); Quadrado (x^2) – e, se ainda assim a normalidade não fosse obtida, empregava-se o procedimento NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica. Quando os dados obedeceram às premissas, implementou-se a análise de variância paramétrica - PROC GLM, Teste de Tukey ou LSD.

A variável taxa de ovulação, que apresenta uma resposta binomial - com ou não -, foi analisada pelo teste Qui-Quadrado.

Para a descrição dos resultados foram empregados os erros padrões das médias e as médias (média $\pm$ erro padrão) dos dados originais e os níveis de significância (p) dos dados originais, desde que obedecessem às premissas; dos dados transformados, quando necessária a transformação; e dos dados analisados pela análise não paramétrica, quando não obedecessem às premissas e não houvesse transformações possíveis.

O nível de significância utilizado para rejeitar a hipótese de nulidade (H_0) foi de 5%, isto é: para um nível de significância menor que 0,05, considerou-se que ocorreram diferenças estatísticas entre as variáveis classificatórias para uma determinada variável resposta. Caso o p se encontrasse entre 0,05 e 0,1, considerou-se uma tendência estatística de efeito das variáveis classificatórias.

3.3.1 Experimento 1 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS NELORE (*Bos indicus*), NELORE X ANGUS (*Bos indicus* x *Bos taurus*) E ABERDEEN ANGUS (*Bos taurus*)

As variáveis classificatórias utilizadas neste experimento foram: tratamento (com e sem PGF) e raças de corte (*Bos taurus* - Angus, *Bos indicus* - Nelore – e *Bos indicus* x *Bos taurus* - Nelore x Angus), em um arranjo fatorial 2 x 3.

Na análise de variância foram verificados os efeitos das variáveis classificatórias tratamento, grupo genético e interação entre as duas classes.

As variáveis-resposta INÍCIO DA ONDA, DIÂMETROS DOS FOLÍCULOS DOMINANTES NO DIA 8 ($\emptyset$ FD NO D8) e NO DIA 9 ($\emptyset$ FD NO D9), DIÂMETRO MÁXIMO DO FOLÍCULO DOMINANTE ($\emptyset$ MÁXIMO DO FD), DIÂMETRO MÁXIMO DO FOLÍCULO OVULATÓRIO ($\emptyset$ MÁXIMO

DO FO), TAXA DE CRESCIMENTO DO FOLÍCULO DOMINANTE, DIÂMETRO DO CORPO LÚTEO ($\emptyset$ CL) e ÁREA DO CL obedeceram às premissas, sendo analisadas pela análise de variância paramétrica.

As variáveis-resposta MOMENTO DA OVULAÇÃO e CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA, NO DIA 22, DAS VACAS OVULADAS (P_4 ovuladas no D22) não obedeceram à normalidade dos resíduos, sendo esta obtida pela transformação para o logaritmo de seus valores na base 10.

As variáveis-resposta NÚMERO DE FOLÍCULOS RECRUTADOS e CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA, NO DIA 22, DE TODAS AS VACAS (P_4 TOTAL NO D22) não obedeceram à normalidade dos resíduos, sendo esta obtida pela transformação para a raiz quadrada de seus valores.

A variável taxa de ovulação foi analisada pelo Qui-quadrado.

3.3.2 Experimento 2 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS GIR (*BOS INDICUS*), GIR X HPB (*BOS INDICUS* X *BOS TAURUS*) E HPB (*BOS TAURUS*)

As variáveis classificatórias utilizadas neste experimento foram: tratamento (com e sem PGF) e grupo genético de leite (*Bos taurus* - Holandês, *Bos indicus* - Gir e *Bos indicus* x *Bos taurus* - Girolando), em um arranjo fatorial 2 x 3.

Na análise de variância foram verificados os efeitos das variáveis classificatórias tratamento, grupo genético e a interação entre as duas classes.

As variáveis-resposta INÍCIO DA ONDA, NÚMERO DE FOLÍCULOS RECRUTADOS, $\emptyset$ FD NO D8, $\emptyset$ FD NO D9, $\emptyset$ MÁXIMO DO FD, $\emptyset$ MÁXIMO DO FO, TAXA DE CRESCIMENTO E P_4 TOTAL NO D22 obedeceram às premissas, sendo analisadas pela análise de variância paramétrica.

A variável-resposta MOMENTO DA OVULAÇÃO não obedeceu à normalidade dos resíduos, sendo esta obtida pela transformação para o logaritmo de seus valores na base 10. Um animal da raça Gir se comportou como *outlier* - com um tempo de 108 horas -, e foi retirado da análise.

As variáveis P_4 DAS OVULADAS NO D22, $\emptyset$ CL e ÁREA DO CL não obedeceram às premissas, não sendo possível transformá-las. Essas variáveis foram então analisadas pelo PROC NPAR1WAY de análise de variância não paramétrica. Nesses casos, utilizou-se o nível de significância do teste Wilcoxon para dois tratamentos, sendo os efeitos do tratamento, o grupo genético e a interação tratamento x grupo genético verificados separadamente.

A variável TAXA DE OVULAÇÃO foi analisada pelo Qui-quadrado.

3.3.3 Análise conforme o Grupo Genético

As variáveis classificatórias utilizadas neste experimento foram: tratamento (com e sem PGF), grupo genético (*Bos taurus*, *Bos indicus* e *Bos indicus* x *Bos taurus*) e aptidão (leite e corte).

Na análise de variância foram verificados os efeitos das variáveis classificatórias tratamento, grupo genético e aptidão, assim como das interações entre estas. Caso não houvesse interação entre aptidão e outras variáveis classificatórias, os dois subgrupos - leite e corte - seriam analisados como apenas um grupo, levando-se em conta os efeitos dos tratamentos e do grupo genético, assim como das interações entre os mesmos.

As variáveis-resposta INÍCIO DA ONDA, Ø FD NO D8, Ø FD NO D9, Ø MÁXIMO DO FD, Ø MÁXIMO DO FO, TAXA DE CRESCIMENTO e ÁREA DO CL obedeceram às premissas, sendo analisadas pela análise de variância paramétrica.

As variáveis-resposta Ø CL e CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA DO DIA 22 DAS VACAS OVULADAS (P₄ OVULADAS NO D22) não obedeceram à normalidade dos resíduos, sendo esta obtida pela transformação para o logaritmo de seus valores na base 10.

As variáveis-resposta NÚMERO DE FOLÍCULOS RECRUTADOS e CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE PROGESTERONA DO DIA 22 DE TODAS AS VACAS (P₄ TOTAL NO D22) não obedeceram à normalidade dos resíduos, sendo esta obtida através da transformação para a raiz quadrada de seus valores.

A variável-resposta MOMENTO DA OVULAÇÃO não obedeceu à normalidade dos resíduos, que foi obtida pela transformação para um sobre seus valores (1/MOMOV).

A variável taxa de ovulação foi analisada através do Qui-quadrado.

4 RESULTADOS

4.1 EXPERIMENTO 1 - ESTUDO DA DINÂMICA FOLICULAR DURANTE O TRATAMENTO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO COM PROGESTERONA E BENZOATO DE ESTRADIOL EM NOVILHAS NELORE (*BOS INDICUS*), NELORE X ANGUS (*BOS INDICUS* X *BOS TAURUS*) E ABERDEEN ANGUS (*BOS TAURUS*)

Foram retiradas do experimento uma novilha do grupo N-cPGF e uma novilha do Grupo A-sPGF, devido à dilaceração da mucosa retal. O diâmetro dos FDs no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (D0) foi semelhante (P>0,05) entre as novilhas Nelore (11,5 ± 0,6mm), Nelore x Angus (11,5 ± 0,3mm) e Angus (11,4 ± 0,6mm). Os resultados da análise do efeito dos tratamentos - com e sem PGF no D0 - dos grupamentos genéticos Nelore, Nelore x Angus e Angus, e da interação tratamentos x grupamentos genéticos constam da Tabela 1.

Tabela 1 - Análise do efeito dos tratamentos - com e sem PGF no D0 -, dos grupos genéticos - Nelore, Nelore x Angus e Angus -, e da interação tratamentos x grupos genéticos sobre as variáveis estudadas - Pindamonhangaba, 2003

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	GRUPOS GENÉTICOS	INTERAÇÃO
	(Valor do P)	(Valor do P)	(Valor do P)
Início da onda	0,36	0,45	0,56
Nº folículos recrutados	0,40	0,67	0,40
Ø FD no D8	0,14	0,04	0,73
Ø FD no D9	0,04	0,02	0,46
Ø máximo do FD	0,18	0,008	0,20
Ø máximo do FO	0,23	0,19	0,47
Taxa de crescimento	0,15	0,04	0,31
Taxa de ovulação	0,82	0,07	0,80
Momento da ovulação	0,06	0,22	0,89
Ø CL	0,34	0,05	0,39
Área do CL	0,16	0,02	0,40
P ₄ total no D22	0,42	0,04	0,59
P ₄ ovuladas no D22	0,40	0,14	0,27

Os dados da Tabela 2 indicam que não houve diferença significativa no intervalo entre a inserção do dispositivo intravaginal de P₄ e a emergência da nova onda de crescimento folicular entre as novilhas Nelore ($3,3 \pm 0,2$ dias; n= 12), Nelore x Angus ($3,5 \pm 0,1$ dias; n= 13) e Angus ($3,2 \pm 0,1$ dias; n= 12), nem entre o efeito do tratamento com PGF ($3,5 \pm 0,2$ dias; n= 18) e sem PGF ($3,3 \pm 0,1$ dias; n= 19). A sincronização da onda de crescimento folicular também foi semelhante entre as raças e os tratamentos.

Não foi observada diferença significativa entre as raças para o número de folículos recrutados (>2mm) na emergência da nova onda de crescimento folicular (Tabela 2). No entanto, apesar de não diferir estatisticamente, o número de pequenos folículos foi numericamente maior nas novilhas Nelore ($39,7 \pm 4,9$ mm) que nas novilhas Nelore x Angus ($31,0 \pm 3,6$ mm) e Angus ($31,5 \pm 2,7$ mm). Não houve diferença significativa entre os tratamentos com PGF ($39,3 \pm 4,5$ mm) e sem PGF ($34,1 \pm 3,4$ mm).

O diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da retirada do dispositivo intravaginal de P₄ (D8) diferiu significativamente ($P<0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2). Houve efeito significativo da raça no diâmetro do FD no D8, que foi menor ($P<0,05$) nas novilhas Nelore ($7,5 \pm 0,3$ mm), que nas novilhas Nelore x Angus ($9,1 \pm 0,4$ mm). No entanto, o diâmetro do FD das novilhas Angus ($8,6 \pm 0,6$ mm) não diferiu das demais raças. Não se verificou efeito dos tratamentos (com PGF e sem PGF) no diâmetro do FD no D8.

Verificou-se diferença significativa ($P<0,05$) para o diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da administração de BE (D9). O diâmetro do FD (D9) foi maior ($P<0,05$) nas novilhas Nelore x Angus ($10,2 \pm 0,5$ mm) que nas novilhas Nelore ($8,2 \pm 0,4$ mm). Não foi observada diferença significativa entre as

novilhas Angus ($9,4 \pm 0,6\text{mm}$) e as novilhas Nelore e Nelore x Angus. Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) no diâmetro do FD (D9) entre as novilhas tratadas com PGF ($9,9 \pm 0,4\text{mm}$) e sem PGF ($8,8 \pm 0,4\text{mm}$) no dia da inserção do dispositivo.

O diâmetro máximo do FD da nova onda de crescimento folicular diferiu estatisticamente ($P < 0,05$) entre as raças (Tabela 2, Gráfico 1). O diâmetro do FD foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas Nelores x Angus ($11,5 \pm 0,6\text{mm}$) e Angus ($10,8 \pm 0,6\text{mm}$) que nas novilhas Nelore ($9,1 \pm 0,4\text{mm}$), mas não foi observada diferença significativa entre os tratamentos - com PGF ($10,8 \pm 0,5\text{mm}$) e sem PGF ($10,2 \pm 0,4\text{mm}$).

Não houve diferença significativa para raça (Nelore = $10,1 \pm 0,4\text{mm}$; Nelore x Angus = $12,0 \pm 0,6\text{mm}$; Angus = $11,0 \pm 0,6\text{mm}$) e tratamento (com PGF = $11,9 \pm 0,5\text{mm}$ e sem PGF = $10,8 \pm 0,5\text{mm}$), para o diâmetro máximo do FO da nova onda de crescimento folicular (Tabela 2).

A taxa de crescimento (mm/dia) da nova onda de crescimento folicular diferiu estatisticamente ($P < 0,05$). As novilhas Nelore x Angus tiveram maior taxa de crescimento ($1,2 \pm 0,1\text{mm/dia}$; $P < 0,05$) que as novilhas Nelore ($0,9 \pm 0,1\text{mm/dia}$), mas não apresentaram diferença significativa em relação às novilhas Angus ($1,1 \pm 0,1\text{mm/dia}$). Também não houve efeito significativo do tratamento com PGF ($1,1 \pm 0,1\text{mm/dia}$) e sem PGF ($1,1 \pm 0,1\text{mm/dia}$), sobre a taxa de crescimento da nova onda de crescimento folicular (Tabela 2).

Tabela 2 - Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento em novilhas Nelore, Nelore x Angus e Angus tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (Dia 0) - Pindamonhangaba, 2003

Grupo genético	Tratamento	N	Início da onda	Nº de folículos recrutados	Ø FD no D8	Ø FD no D9	Ø máximo do FD	Ø máximo do FO	Taxa de crescimento
			(dia)	(>2mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm/dia)
Nelore ⁽¹⁾	Com PGF	6	3,3 ± 0,3	48,2 ± 8,0	7,6 ± 0,3 ^{bc}	8,4 ± 0,5 ^b	8,9 ± 0,6 ^d	10,2 ± 0,7	0,9 ± 0,1 ^c
	Sem PGF	6	3,3 ± 0,3	31,3 ± 3,7	7,4 ± 0,5 ^c	8,0 ± 0,6 ^b	9,2 ± 0,5 ^{cd}	10,0 ± 0,6	0,9 ± 0,1 ^{bc}
Nelore x Angus ⁽¹⁾	Com PGF	6	3,8 ± 0,2	32,3 ± 5,5	9,7 ± 0,7 ^a	10,8 ± 0,5 ^a	11,7 ± 0,8 ^{ab}	12,3 ± 0,7	1,2 ± 0,1 ^{ab}
	Sem PGF	7	3,3 ± 0,2	29,7 ± 4,8	8,7 ± 0,5 ^{abc}	9,7 ± 0,8 ^{ab}	11,4 ± 0,9 ^{abc}	11,8 ± 1,0	1,1 ± 0,1 ^{abc}
Angus ⁽¹⁾	Com PGF	6	3,2 ± 0,2	29,6 ± 5,1	9,4 ± 1,0 ^{ab}	10,8 ± 1,0 ^a	12,3 ± 1,2 ^a	12,3 ± 1,2	1,3 ± 0,1 ^a
	Sem PGF	6	3,2 ± 0,2	33,0 ± 2,9	8,1 ± 0,7 ^{abc}	8,5 ± 0,5 ^b	9,7 ± 0,3 ^{bcd}	10,0 ± 0,2	0,9 ± 0,1 ^{bc}
EFEITOS PRINCIPAIS									
Nelore ⁽¹⁾		12	3,3 ± 0,2	39,7 ± 4,9	7,5 ± 0,3 ^b	8,2 ± 0,4 ^b	9,1 ± 0,4 ^b	10,1 ± 0,4	0,9 ± 0,1 ^b
Nelore x Angus ⁽¹⁾		13	3,5 ± 0,1	31,0 ± 3,6	9,1 ± 0,4 ^a	10,2 ± 0,5 ^a	11,5 ± 0,6 ^a	12,0 ± 0,6	1,2 ± 0,1 ^a
Angus ⁽¹⁾		12	3,2 ± 0,1	31,5 ± 2,7	8,6 ± 0,6 ^{ab}	9,4 ± 0,6 ^{ab}	10,8 ± 0,6 ^a	11,0 ± 0,6	1,1 ± 0,1 ^{ab}
Com PGF ⁽¹⁾		18	3,5 ± 0,2	39,3 ± 4,5	8,8 ± 0,4	9,9 ± 0,4 ^a	10,8 ± 0,5	11,9 ± 0,5	1,1 ± 0,1
Sem PGF ⁽¹⁾		19	3,3 ± 0,1	34,1 ± 3,4	8,1 ± 0,3	8,8 ± 0,4 ^b	10,2 ± 0,4	10,8 ± 0,5	1,1 ± 0,1

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P<0,05)

Gráfico 1 -Dinâmica folicular de novilhas Nelore, Nelore x Angus e Angus tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ associado a benzoato de estradiol e prostaglandina. Pindamonhangaba, 2003.

Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) na taxa de ovulação da nova onda de crescimento folicular (Tabela 3). A taxa de ovulação foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas Nelore x Angus (84,6%; 11/13) e Nelore (41,6%; 5/12); mas a taxa de ovulação das novilhas Angus (75%; 9/12) foi semelhante àquelas das demais raças.

O momento da ovulação da nova onda de crescimento folicular após a retirada do dispositivo de P_4 não foi diferente entre as novilhas Nelore ($79,2 \pm 2,9h$), Nelore x Angus ($74,2 \pm 1,5h$) e Angus ($74,6 \pm 1,7h$; Tabela 3). No entanto, foi observada tendência estatística ($P = 0,06$) no período de ovulação nas novilhas tratadas com PGF ($73,0 \pm 1,0h$) e sem PGF ($77,1 \pm 1,6h$).

Verificou-se efeito significativo ($P < 0,05$) do diâmetro do CL doze dias após a ovulação (Tabela 3). Foi observado maior ($P < 0,05$) diâmetro do CL nas novilhas Nelore x Angus ($16,8 \pm 0,8mm$) que nas novilhas Nelore ($13,5 \pm 0,5mm$); mas as novilhas Angus ($15,3 \pm 0,8mm$) não diferiram das demais raças. O tratamento com e sem PGF foi similar entre as novilhas ($16,5 \pm 0,9mm$ x $14,9 \pm 0,6mm$); respectivamente.

A área do CL foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas Nelore x Angus ($268,7 \pm 26,5mm^2$) que nas novilhas Nelore ($160,2 \pm 10,4mm^2$). Entretanto, a área do CL nas novilhas Angus ($223,7 \pm 27,1mm^2$) não diferiu das demais raças. Foi observada tendência estatística ($P = 0,07$) nas novilhas tratadas com PGF ($267,4 \pm 30,1mm^2$) e sem PGF ($202,0 \pm 16,2mm^2$) no dia da inserção do dispositivo.

Foi observado efeito significativo ($P < 0,05$) nas concentrações séricas de P_4 no D22 (Tabela 3). As concentrações de P_4 em todas as novilhas Nelore x Angus ($5,0 \pm 1,0ng/ml$) foram mais elevadas ($P < 0,05$) que nas novilhas Nelore ($2,2 \pm 0,5ng/ml$) e Angus ($2,3 \pm 0,6ng/ml$). Entretanto, não se verificou efeito do tratamento nessa variável (com PGF $2,9 \pm 0,7ng/ml$ x $3,5 \pm 0,6ng/ml$ sem PGF).

As concentrações séricas de P_4 nas novilhas ovuladas no D22 não diferiram ($P > 0,05$) entre as raças Nelore ($3,5 \pm 0,8ng/ml$), Nelore x Angus ($5,8 \pm 0,9ng/ml$) e Angus ($3,9 \pm 0,8ng/ml$). Não foi observada diferença significativa entre as novilhas tratadas com PGF ($4,6 \pm 0,9ng/ml$) e sem PGF ($4,8 \pm 0,8ng/ml$) para essa variável (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxas de ovulação, momento da ovulação, diâmetro do CL, área do CL, progesterona total no D22, progesterona de novilhas ovuladas no D22 nos grupos genéticos Nelore, Nelore x Angus e Angus tratados com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003

Grupo genético	Tratamento	N	Taxa de ovulação	Momento da ovulação	Ø CL	Área do CL	P ₄ total no D22	P ₄ de novilhas ovuladas no D22
			(%)	(hora)	(mm)	(mm ²)	(ng/ml)	(ng/ml)
Nelore ⁽¹⁾	Com PGF	6	33,3 (2/6)	78,0 ± 6,0	12,7 ± 0,6 ^b	151,0 ± 15,0 ^c	1,4 ± 0,3 ^b	2,0 ± 0,4 ^b
	Sem PGF	6	50,0 (3/6)	80,0 ± 4,0	14,0 ± 0,7 ^b	166,3 ± 15,4 ^{bc}	2,9 ± 0,9 ^{ab}	4,5 ± 1,1 ^{ab}
Nelore x Angus ⁽¹⁾	Com PGF	6	83,3 (5/6)	72,0 ± 0,0	18,1 ± 1,1 ^a	318,6 ± 41,2 ^a	5,4 ± 1,5 ^a	6,4 ± 1,4 ^a
	Sem PGF	7	85,7 (6/7)	76,0 ± 2,5	15,8 ± 1,1 ^{ab}	227,2 ± 26,3 ^{abc}	4,6 ± 1,4 ^{ab}	5,3 ± 1,4 ^{ab}
Angus ⁽¹⁾	Com PGF	6	80,0 (5/6)	72,0 ± 0,0	16,5 ± 1,4 ^{ab}	261,7 ± 45,6 ^{ab}	1,7 ± 0,7 ^b	3,2 ± 0,5 ^{ab}
	Sem PGF	6	71,4 (4/6)	76,8 ± 2,9	14,4 ± 1,0 ^{ab}	193,2 ± 29,5 ^{bc}	2,7 ± 1,1 ^{ab}	4,4 ± 1,5 ^{ab}
EFEITOS PRINCIPAIS								
Nelore ⁽¹⁾		12	41,6 ^b (5/12)	79,2 ± 2,9	13,5 ± 0,5 ^b	160,2 ± 10,4 ^b	2,2 ± 0,5 ^b	3,5 ± 0,8
Nelore x Angus ⁽¹⁾		13	84,6 ^a (11/13)	74,2 ± 1,5	16,8 ± 0,8 ^a	268,7 ± 26,5 ^a	5,0 ± 1,0 ^a	5,8 ± 0,9
Angus ⁽¹⁾		12	75,0 ^{ab} (9/12)	74,6 ± 1,7	15,3 ± 0,8 ^{ab}	223,7 ± 27,1 ^{ab}	2,3 ± 0,6 ^b	3,9 ± 0,8
Com PGF ⁽¹⁾		18	64,7 (12/18)	73,0 ± 1,0 ^a	16,5 ± 0,9	267,4 ± 30,1 ^a	2,9 ± 0,7	4,6 ± 0,9
Sem PGF ⁽¹⁾		19	70,0 (13/19)	77,1 ± 1,6 ^b	14,9 ± 0,6	202,0 ± 16,2 ^b	3,5 ± 0,6	4,8 ± 0,8

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P<0,05)

4.2 EXPERIMENTO 2 - Estudo da dinâmica folicular durante o tratamento de sincronização da ovulação com progesterona e benzoato de estradiol em novilhas Gir (*Bos indicus*), Gir x Holandês Preto e Branco (*Bos indicus* x *Bos taurus*) e Holandês Preto e Branco (*Bos taurus*)

Os resultados da análise do efeito do tratamento - com e sem PGF no D0 -, do grupamento genético - Gir, Holandês e Girolando - e da interação tratamento x grupamento genético estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Análise do efeito dos tratamentos - com e sem PGF no D0 -, dos grupos genéticos - Gir, Holandês e Girolando -, e da interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas - Pindamonhangaba, 2003

VARIÁVEIS	TRATAMENTOS	GRUPOS GENÉTICOS	INTERAÇÃO
	(Valor do P)	(Valor do P)	(Valor do P)
Início da onda	0,18	0,08	0,99
Nº fol. recrutados	0,02	0,10	0,90
Ø FD no D8	0,001	0,12	0,42
Ø FD no D9	0,002	0,07	0,42
Ø máximo do FD	0,02	0,01	0,72
Ø máximo do FO	0,89	0,55	0,88
Taxa de crescimento	0,002	0,008	0,63
Taxa de ovulação	0,0001	0,02	0,30
Momento da ovulação	0,86	0,39	0,86
Ø CL	0,71	0,002	0,47
Área do CL	0,33	0,003	0,46
P ₄ total no D22	0,003	0,39	0,94
P ₄ ovuladas no D22	0,46	0,40	0,70

O diâmetro do FD no dia da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (D0) foi maior ($P<0,001$) nas novilhas HPB ($13,5 \pm 0,7\text{mm}$) que nas novilhas Gir ($10,5 \pm 0,3\text{mm}$) e Gir x HPB ($10,3 \pm 0,6\text{mm}$). O intervalo entre a inserção do dispositivo intravaginal de P₄ e a emergência da nova onda de crescimento folicular não foi diferente ($P>0,05$) entre as raças. No entanto, o dia da emergência da nova onda de crescimento folicular foi menor ($P<0,05$) nas novilhas Gir ($2,9 \pm 0,1$ dias; $n=11$) que nas novilhas HPB ($3,3 \pm 0,1$ dias; $n=10$), mas não houve diferença significativa em relação às novilhas Gir x HPB ($3,1 \pm 0,1$ dias; $n=12$). Não foi observada variação na sincronia da nova onda de crescimento folicular em função da raça, e o tratamento com PGF no D0 não influenciou o dia da emergência da nova onda de crescimento folicular (Tabela 5).

Verificou-se efeito significativo ($P<0,05$) dos tratamentos para o número de folículos recrutados ($>2\text{mm}$) na emergência da nova onda de crescimento folicular - com e sem PGF no D0 $20,2 \pm 2,0$ x $29,2 \pm 2,9$, respectivamente (Tabela 5). Embora não fosse observado efeito significativo de raça, o número de folículos recrutados foi numericamente maior nas novilhas Gir x HPB ($28,2 \pm 3,5\text{mm}$) e Gir ($26,5 \pm 3,1\text{mm}$), que nas novilhas HPB ($18,9 \pm 2,9\text{mm}$).

O diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da retirada (D8) do dispositivo intravaginal de P₄ (Tabela 5) foi similar nas novilhas Gir ($8,0 \pm 0,4\text{mm}$), Gir x HPB ($9,8 \pm 0,7\text{mm}$) e HPB ($8,6 \pm 0,9\text{mm}$). No entanto, os resultados mostram efeito significativo ($P<0,05$) dos tratamentos com PGF ($10,1 \pm 0,4\text{mm}$) e sem PGF ($7,6 \pm 0,5\text{mm}$).

O diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da administração de BE (D9) foi maior ($P<0,05$) nas novilhas Gir x HPB ($11,2 \pm 0,6\text{mm}$) que nas novilhas Gir ($8,7 \pm 0,8\text{mm}$), mas não diferiu em relação novilhas HPB ($10,0 \pm 1,0\text{mm}$) e Gir. O efeito do tratamento com PGF ($11,5 \pm 0,5\text{mm}$) e sem PGF ($8,7 \pm 0,7\text{mm}$) também apresentou diferença significativa ($P<0,05$) no diâmetro folicular (Tabela 5).

O diâmetro máximo do FD da nova onda de crescimento folicular foi maior ($P<0,05$) nas novilhas Gir x HPB ($13,0 \pm 0,6\text{mm}$) e nas novilhas HPB ($12,5 \pm 0,8\text{mm}$) que nas novilhas Gir ($10,0 \pm 0,8\text{mm}$). Também foi observado também efeito significativo ($P<0,05$) dos tratamentos com PGF ($12,9 \pm 0,5\text{mm}$) e sem PGF ($10,9 \pm 0,7\text{mm}$) no diâmetro máximo do FD (Tabela 5; Gráfico 2).

Não houve diferença significativa na interação raças e tratamento (c-PGF e s-PGF) para o diâmetro máximo do FO da nova onda de crescimento folicular (Tabela 5).

As novilhas Gir x HPB ($1,3 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$) e HPB ($1,2 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$) obtiveram maior ($P<0,05$) taxa de crescimento que as novilhas Gir ($0,8 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$; Tabela 5). O tratamento com PGF no D0 também aumentou a taxa de crescimento diária do FD ($1,3 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$ x $0,8 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$; $P<0,05$).

Tabela 5 -Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento em novilhas Gir, Gir x HPB e HPB tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) - Pindamonhangaba, 2003

Grupo genético	Tratamento	N	Início da onda	Nº de folículos recrutados	Ø FD no D8	Ø FD no D9	Ø máximo do FD	Ø máximo do FO	Taxa de crescimento
			(dia)	(> 2 mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm/dia)
Gir ⁽¹⁾	Com PGF	5	3,0 ± 0,0 ^{ab}	22,0 ± 2,2 ^{ab}	8,9 ± 0,8 ^{ab}	10,0 ± 1,4 ^{ab}	11,5 ± 1,5 ^{ab}	12,1 ± 1,7	1,0 ± 0,2 ^{abc}
	Sem PGF	6	2,8 ± 0,1 ^b	30,3 ± 5,1 ^a	7,2 ± 0,1 ^b	7,7 ± 0,8 ^b	8,7 ± 0,7 ^b	-	0.6 ± 0,2 ^c
Gir x HPB ⁽¹⁾	Com PGF	6	3,1 ± 0,1 ^{ab}	24,5 ± 3,8 ^{ab}	10,7 ± 0,7 ^a	12,1 ± 0,2 ^a	13,7 ± 0,3 ^a	13,7 ± 0,3	1,4 ± 0,1 ^a
	Sem PGF	6	3,0 ± 0,0 ^{ab}	32,0 ± 5,8 ^a	8,8 ± 1,1 ^{ab}	10,4 ± 1,2 ^{ab}	12,4 ± 1,1 ^a	13,6 ± 1,3	1,2 ± 0,2 ^{ab}
HPB ⁽¹⁾	Com PGF	5	3,4 ± 0,2 ^a	13,2 ± 1,8 ^b	10,5 ± 0,8 ^a	12,2 ± 0,5 ^a	13,4 ± 0,5 ^a	13,4 ± 0,5	1,4 ± 0,1 ^a
	Sem PGF	5	3,2 ± 0,2 ^{ab}	24,6 ± 4,5 ^{ab}	6,7 ± 1,0 ^b	7,9 ± 1,4 ^b	11,6 ± 1,4 ^{ab}	13,7 ± 2,6	0.9 ± 0,1 ^{bc}
EFEITOS PRINCIPAIS									
Gir ⁽¹⁾		11	2,9 ± 0,1 ^b	26,5 ± 3,1	8,0 ± 0,4	8,7 ± 0,8 ^b	10,0 ± 0,8 ^b	12,1 ± 1,7	0.8 ± 0,1 ^b
Gir x HPB ⁽¹⁾		12	3,1 ± 0,1 ^{ab}	28,2 ± 3,5	9,8 ± 0,7	11,2 ± 0,6 ^a	13,0 ± 0,6 ^a	13,7 ± 0,5	1,3 ± 0,1 ^a
HPB ⁽¹⁾		10	3,3 ± 0,1 ^a	18,9 ± 2,9	8,6 ± 0,9	10,0 ± 1,0 ^{ab}	12,5 ± 0,8 ^a	13,5 ± 0,6	1,2 ± 0,1 ^a
Com PGF ⁽¹⁾		16	3,2 ± 0,1	20,2 ± 2,0 ^a	10,1 ± 0,4 ^a	11,5 ± 0,5 ^a	12,9 ± 0,5 ^a	13,1 ± 0,5	1,3 ± 0,1 ^a
Sem PGF ⁽¹⁾		17	3,0 ± 0,1	29,2 ± 2,9 ^b	7,6 ± 0,5 ^b	8,7 ± 0,7 ^b	10,9 ± 0,7 ^b	13,7 ± 1,0	0.9 ± 0,1 ^b

⁽¹⁾Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P < 0,05)

Gráfico 2 - Dinâmica folicular de novilhas Gir, Girolando e Holandês tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ associado a benzoato de estradiol e prostaglandina. Pindamonhangaba, 2003

A taxa de ovulação da nova onda de crescimento folicular (Tabela 6) foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas Gir x HPB (83,3%; 10/12) que nas novilhas Gir (36,4%; 4/11), mas não diferiu estatisticamente das novilhas HPB (70,0%; 7/10). Houve também diferença ($P < 0,05$) na taxa de ovulação entre os tratamentos com PGF (93,7%; 15/16) e sem PGF (35,3 %; 6/17).

Não foram observados efeitos da raça e do tratamento no parâmetro momento da ovulação da nova onda de crescimento folicular (Tabela 6).

As novilhas HPB apresentaram diâmetro de CL significativamente maior ($22,4 \pm 0,5\text{mm}$; $P < 0,05$) que as novilhas Gir x HPB ($18,6 \pm 0,7\text{mm}$) e Gir ($17,6 \pm 0,7\text{mm}$). Entretanto, o tratamento com PGF no D0 não influenciou o diâmetro do CL ($P > 0,05$; Tabela 6).

Embora a área do CL tenha sido significativamente maior ($P < 0,05$) nas novilhas HPB ($406,6 \pm 18,4\text{mm}^2$) que nas novilhas Gir x HPB ($298,9 \pm 20,5\text{mm}^2$) e Gir ($273,2 \pm 20,5\text{mm}^2$); os tratamentos com e sem PGF não influenciaram esse parâmetro (Tabela 6).

As concentrações séricas de P_4 no D22 de todas as novilhas, diferiram ($P < 0,05$) entre os tratamentos com PGF ($4,3 \pm 0,4\text{ng/ml}$) e sem PGF ($2,2 \pm 0,5\text{ng/ml}$; Tabela 6). Entretanto, as concentrações de P_4 não foram diferentes entre as raças Gir ($2,5 \pm 1,0\text{ng/ml}$), Gir x HPB ($3,2 \pm 1,0\text{ng/ml}$) e HPB ($4,0 \pm 1,0\text{ng/ml}$).

Não houve efeito da raça e do tratamento nas concentrações de P_4 de novilhas ovuladas no D22 (Tabela 6).

Tabela 6 - Taxas de ovulação, momento da ovulação, diâmetro do CL, área do CL, progesterona total no D22, progesterona de novilhas ovuladas no D22 nos grupos genéticos Gir, Gir x HPB e HPB tratados com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) - Pindamonhangaba, 2003

Grupo genético	Tratamento	N	Taxa de ovulação (%)	Momento da ovulação (hora)	Ø CL (mm)	Área do CL (mm ²)	P ₄ total no D22 (ng/ml)	P ₄ de novilhas ovuladas no D22 (ng/ml)
Gir ⁽¹⁾	Com PGF	5	80,0 ^{ab} (4/5)	76,0 ± 4,0	17,6 ± 0,7 ^b	273,2 ± 30,7 ^c	3,5 ± 0,1 ^{abc}	4,2 ± 1,0
	Sem PGF	6	0,0 ^c (0/6)	-	-	-	1,6 ± 0,1 ^c	-
Gir x HPB ⁽¹⁾	Com PGF	6	100,0 ^a (6/6)	76,0 ± 2,5	18,8 ± 1,0 ^b	295,8 ± 29,0 ^{bc}	4,0 ± 0,5 ^{ab}	3,9 ± 0,5
	Sem PGF	6	66,7 ^{ab} (4/6)	75,0 ± 3,0	18,4 ± 1,3 ^b	303,5 ± 32,1 ^{bc}	2,4 ± 1,0 ^{bc}	3,6 ± 1,0
HPB ⁽¹⁾	Com PGF	5	100,0 ^a (5/5)	72,0 ± 0,0	22,1 ± 0,7 ^a	390,6 ± 21,0 ^{ab}	5,4 ± 1,0 ^a	5,4 ± 1,0
	Sem PGF	5	40,0 ^{bc} (2/5)	72,0 ± 0,0	23,2 ± 0,7 ^a	446,5 ± 20,5 ^a	2,6 ± 1,0 ^{bc}	4,4 ± 1,9
EFEITOS PRINCIPAIS								
Gir ⁽¹⁾		11	36,4 ^b (4/11)	76,0 ± 4,0	17,6 ± 0,7 ^b	273,2 ± 30,7 ^b	2,5 ± 1,0	4,2 ± 1,0
Gir x HPB ⁽¹⁾		12	83,3 ^a (10/12)	75,6 ± 1,8	18,6 ± 0,7 ^b	298,9 ± 20,5 ^b	3,2 ± 1,0	3,8 ± 0,4
HPB ⁽¹⁾		10	70,0 ^{ab} (7/10)	72,0 ± 0,0	22,4 ± 0,5 ^a	406,6 ± 18,4 ^a	4,0 ± 1,0	5,1 ± 1,0
Com PGF ⁽¹⁾		16	93,7 ^a (15/16)	74,6 ± 1,4	19,6 ± 0,7	321,4 ± 19,8	4,3 ± 0,4 ^a	4,5 ± 0,4
Sem PGF ⁽¹⁾		17	35,3 ^b (6/17)	74,0 ± 2,0	20,0 ± 1,3	351,2 ± 36,7	2,2 ± 0,5 ^b	3,9 ± 1,0

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P<0,05)

4.3 RESULTADOS CONFORME GRUPO GENÉTICO

Os dados dos Experimentos 1 e 2 foram analisados juntamente, e os efeitos da aptidão - corte e leite -, do tratamento - com e sem PGF no D0 -, do grupo genético - *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus* e *Bos taurus* - e suas respectivas interações estão apresentados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 - Análise do efeito da aptidão - corte ou leite -, do grupo genético - *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bos indicus* x *Bos taurus* - e da interação aptidão x grupo genético sobre as variáveis estudadas - Pindamonhangaba, 2003

VARIÁVEIS	APTIDÃO	GRUPO GENÉTICO	INTERAÇÃO
	(Valor do P)	(Valor do P)	(Valor do P)
Início da onda	0,05	0,48	0,16
Nº fol. recrutados	0,003	0,11	0,27
Ø FD no D8	0,45	0,01	0,87
Ø FD no D9	0,21	0,005	0,92
Ø máximo do FD	0,005	0,21	0,92
Ø máximo do FO	0,003	0,10	0,84
Taxa de crescimento	0,52	0,0007	0,54
Taxa de ovulação	0,72	0,003	0,98
Momento da ovulação	0,39	0,18	0,39
Ø CL	0,0001	0,01	0,01*
Área do CL	0,0001	0,007	0,008*
P ₄ total no D22	0,83	0,15	0,11
P ₄ ovuladas no D22	0,65	0,60	0,10

Tabela 8 -Análise do efeito do tratamento - com e sem PGF no D0 -, do grupo genético - *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bos indicus* x *Bos taurus* - e da interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas - Pindamonhangaba, 2003

VARIÁVEIS	TRATAMENTO	GRUPO GENÉTICO	INTERAÇÃO
	(Valor do P)	(Valor do P)	(Valor do P)
Início da onda	0,16	0,52	0,79
Nº fol. recrutados	0,32	0,09	0,17
Ø FD no D8	0,0003	0,005	0,33
Ø FD no D9	0,0001	0,001	0,19
Ø máximo do FD	0,009	0,0001	0,49
Ø máximo do FO	0,08	0,08	0,63
Taxa de crescimento	0,0005	0,0002	0,25
Taxa de ovulação	0,02	0,002	0,76
Momento da ovulação	0,12	0,13	0,82
P ₄ total no D22	0,14	0,14	0,82
P ₄ ovuladas no D22	0,97	0,77	0,57

Foi observado maior ($P<0,05$) número de folículos recrutados nas novilhas *B. indicus* ($33,4 \pm 3,2$) que nas novilhas *B. taurus* ($25,4 \pm 2,5$), enquanto que nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($29,6 \pm 2,5$) o número de folículos recrutados foi semelhante ao dos demais grupamentos genéticos. Os tratamentos - com PGF ($28,7 \pm 2,8$) e sem PGF ($30,4 \pm 1,8$) - não influenciaram o número de folículos recrutados (Tabela 9).

O diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da retirada do dispositivo intravaginal de P₄ (D8) foi menor ($P<0,05$) nas novilhas *B. indicus* ($7,7 \pm 0,3\text{mm}$) que nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($9,5 \pm 0,4\text{mm}$), mas não foi observada diferença significativa entre as novilhas *B. taurus* ($8,6 \pm 0,5\text{mm}$; Gráfico 3) e os demais grupamentos genéticos. Ainda, houve efeito significativo ($P<0,05$) dos

tratamentos com PGF ($9,5 \pm 0,3\text{mm}$) e sem PGF ($7,9 \pm 0,3\text{mm}$) no diâmetro do FD no D8 (Tabela 9; Gráfico 4).

Similarmente, o diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da administração de BE (D9) diferiu estatisticamente ($P < 0,05$; Tabela 9): foi menor ($P < 0,05$) nas novilhas *B. indicus* ($8,5 \pm 0,4\text{mm}$) que nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($10,7 \pm 0,4\text{mm}$), mas entre esses grupamentos e as novilhas *B. taurus* ($9,8 \pm 0,6\text{mm}$; Gráfico 3). Houve também efeito significativo ($P < 0,05$) dos tratamentos - com PGF ($10,7 \pm 0,4\text{mm}$) e sem PGF ($8,8 \pm 0,4\text{mm}$; Gráfico 4).

O diâmetro máximo do FD da nova onda de crescimento folicular foi menor ($P < 0,05$; Tabela 9; Gráfico 3) nas novilhas *B. indicus* ($9,5 \pm 0,5\text{mm}$) que nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($12,3 \pm 0,4\text{mm}$) e *B. taurus* ($11,6 \pm 0,5\text{mm}$). O tratamento com PGF no D0 aumentou ($P < 0,05$) o diâmetro máximo do FD ($11,9 \pm 0,4\text{mm}$ x $10,5 \pm 0,5\text{mm}$; Gráfico 4).

As novilhas *B. indicus* ($11,0 \pm 0,8\text{mm}$) apresentaram menor ($P < 0,05$; Tabela 9) diâmetro máximo do FO que as novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($12,8 \pm 0,4\text{mm}$), enquanto o diâmetro máximo do FO nas novilhas *B. taurus* ($12,1 \pm 0,5\text{mm}$) foi semelhante ao dos outros dois grupamentos genéticos. Foi observado, também, aumento ($P < 0,05$) no diâmetro máximo do FO nas novilhas tratadas com PGF ($12,6 \pm 0,4\text{mm}$) em relação às aquelas não tratadas ($11,7 \pm 0,5\text{mm}$).

Os folículos das novilhas *B. indicus* tiveram taxa de crescimento significativamente menor ($0,9 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$; $P < 0,05$) que aqueles das novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($1,2 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$) e *B. taurus* ($1,1 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$). O tratamento com PGF no D0 aumentou ($P < 0,05$) a taxa de crescimento diária ($1,2 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$ x $0,9 \pm 0,1\text{mm}/\text{dia}$; Tabela 9).

Tabela 9 -Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) - Pindamonhangaba - 2003

Grupo genético	Tratamento	N	Início da onda	Nº de folículos recrutados	Ø FD no D8	Ø FD no D9	Ø máximo do FD	Ø máximo do FO	Taxa de crescimento
			(dias)	(> 2 mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm/dia)
<i>B. indicus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	11	3,2 ± 0,2	36,3 ± 6,0 ^a	8,2 ± 0,4 ^b	9,1 ± 0,7 ^{bc}	10,1 ± 0,8 ^{bc}	11,5 ± 0,2 ^{ab}	0,9 ± 0,2 ^{bc}
	Sem PGF	12	3,1 ± 0,2	30,8 ± 3,0 ^a	7,3 ± 0,3 ^b	7,8 ± 0,5 ^c	9,0 ± 0,4 ^c	10,1 ± 0,6 ^b	0,8 ± 0,1 ^c
<i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	12	3,4 ± 0,2	28,4 ± 3,4 ^{ab}	10,2 ± 0,5 ^a	11,5 ± 0,3 ^a	12,7 ± 0,5 ^a	13,0 ± 0,4 ^a	1,3 ± 0,1 ^a
	Sem PGF	13	3,2 ± 0,1	30,8 ± 3,7 ^a	8,7 ± 0,5 ^{ab}	10,0 ± 0,7 ^{ab}	11,9 ± 0,7 ^{ab}	12,6 ± 0,8 ^a	1,1 ± 0,1 ^{ab}
<i>B. taurus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	11	3,3 ± 0,2	20,0 ± 4,1 ^b	10,0 ± 0,6 ^a	11,6 ± 0,6 ^a	12,9 ± 0,6 ^a	12,9 ± 0,6 ^a	1,3 ± 0,1 ^a
	Sem PGF	11	3,2 ± 0,1	29,5 ± 2,7 ^a	7,5 ± 0,6 ^b	8,3 ± 0,7 ^c	10,6 ± 0,7 ^{bc}	11,1 ± 0,9 ^{ab}	0,9 ± 0,1 ^{bc}
EFEITOS PRINCIPAIS									
<i>B. indicus</i> ⁽¹⁾		23	3,1 ± 0,1	33,4 ± 3,2 ^a	7,7 ± 0,3 ^b	8,5 ± 0,4 ^b	9,5 ± 0,5 ^b	11,0 ± 0,8 ^b	0,9 ± 0,1 ^b
<i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> ⁽¹⁾		25	3,3 ± 0,1	29,6 ± 2,5 ^{ab}	9,5 ± 0,4 ^a	10,7 ± 0,4 ^a	12,3 ± 0,4 ^a	12,8 ± 0,4 ^a	1,2 ± 0,1 ^a
<i>B. taurus</i> ⁽¹⁾		22	3,2 ± 0,1	25,4 ± 2,5 ^b	8,6 ± 0,5 ^{ab}	9,8 ± 0,6 ^{ab}	11,6 ± 0,5 ^a	12,1 ± 0,5 ^{ab}	1,1 ± 0,1 ^a
Com PGF ⁽¹⁾		34	3,3 ± 0,1	28,7 ± 2,8	9,5 ± 0,3 ^a	10,7 ± 0,4 ^a	11,9 ± 0,4 ^a	12,6 ± 0,4	1,2 ± 0,1 ^a
Sem PGF ⁽¹⁾		36	3,1 ± 0,1	30,4 ± 1,8	7,9 ± 0,3 ^b	8,8 ± 0,4 ^b	10,5 ± 0,4 ^b	11,7 ± 0,5	0,9 ± 0,1 ^b

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P<0,05)

Gráfico 3 -Dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* X *Bos taurus* e *Bos taurus* tratadas com dispositivo intravaginal de P₄ associado a benzoato de estradiol e prostaglandina. Pindamonhangaba, 2003

Gráfico 4 - Crescimento folicular durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona, conforme administração de PGF no D0 em novilhas *Bos indicus* (n=23), *Bos indicus* x *Bos taurus* (n=25) e *Bos taurus* (n=22). Pindamonhangaba, 2003

A taxa de ovulação ao final do tratamento diferiu estatisticamente ($P < 0,05$) entre os grupamentos genéticos e os tratamentos com PGF no D0 (Tabela 10). A porcentagem de novilhas *B. indicus* (39,1 %; 9/23) que ovularam foi menor ($P < 0,05$) que a porcentagens de novilhas *B. indicus* x *B. taurus* (84,0%; 21/25) e *B. taurus* (72,7%; 16/22) que ovularam. Houve também efeito positivo ($P < 0,05$) da administração de PGF no D0 (79,4%; 27/34), em relação à não administração de PGF (52,7%; 19/36) na taxa de ovulação.

Foi observada diferença significativa ($P < 0,05$) para o parâmetro momento da ovulação da nova onda de crescimento folicular (Tabela 10). As novilhas *B. indicus* ($78,0 \pm 2,3$ h) tiveram um período maior ($P < 0,05$) de ovulação após a retirada do dispositivo de P₄ que as novilhas *B. taurus* ($73,5 \pm 1,0$ h); já o período de ovulação nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($74,8 \pm 1,1$ h) foi similar àquele dos demais grupamentos genéticos. Não houve diferença significativa entre as novilhas que receberam PGF ($73,9 \pm 0,9$ h) e aquelas que não receberam PGF ($76,2 \pm 1,3$ h).

Tabela 10 - Taxas de ovulação, momento da ovulação, progesterona total no D22, progesterona de novilhas ovuladas no D22 nos grupos genéticos *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003

Grupo genético	Tratamento	N	Taxa de ovulação	Momento da ovulação	P ₄ total no D22	P ₄ de novilhas ovuladas no D22
			(%)	(hora)	(ng/ml)	(ng/ml)
<i>B. indicus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	11	54,5 ^{bc} (6/11)	76,8 ± 2,9 ^{ab}	2,5 ± 1,0	3,5 ± 1,0
	Sem PGF	12	25,0 ^c (3/12)	80,0 ± 4,0 ^a	2,3 ± 1,0	4,5 ± 1,2
<i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	12	91,7 ^a (11/12)	74,2 ± 1,5 ^{ab}	4,7 ± 1,0	5,1 ± 1,0
	Sem PGF	13	76,9 ^{ab} (10/13)	75,6 ± 1,8 ^{ab}	3,6 ± 1,0	4,7 ± 1,0
<i>B. taurus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	11	90,9 ^{ab} (10/11)	72,0 ± 0,0 ^b	3,8 ± 1,0	4,6 ± 1,0
	Sem PGF	11	54,5 ^{abc} (6/11)	75,4 ± 2,2 ^{ab}	2,7 ± 1,0	4,4 ± 1,1
EFEITOS PRINCIPAIS						
<i>B. indicus</i> ⁽¹⁾		23	39,1 ^b (9/23)	78,0 ± 2,3 ^a	2,4 ± 0,4	3,8 ± 1,0
<i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> ⁽¹⁾		25	84,0 ^a (21/25)	74,8 ± 1,1 ^{ab}	4,1 ± 1,0	4,9 ± 1,0
<i>B. taurus</i> ⁽²⁾		22	72,7 ^a (16/22)	73,5 ± 1,0 ^b	3,2 ± 1,0	4,6 ± 1,0
Com PGF ⁽¹⁾		34	79,4 ^a (27/34)	73,9 ± 0,9	3,7 ± 0,4	4,5 ± 0,4
Sem PGF ⁽¹⁾		36	52,7 ^b (19/36)	76,2 ± 1,3	2,9 ± 0,4	4,6 ± 1,0

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P < 0,05)

4.3.1 Concentração Sérica de Progesterona

A análise das concentrações séricas de P_4 circulantes no D0, D3, D6 e D10 em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* tratadas com dispositivo intravaginal contendo P_4 , bem como as concentrações desse hormônio conforme o tratamento com PGF no momento da inserção do dispositivo de P_4 (D0), estão apresentadas nas Tabelas 11 e 12.

A concentração sérica de P_4 não diferiu estatisticamente entre as novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* no momento da inserção do dispositivo (D0). As novilhas tratadas com PGF ($3,6 \pm 2,3\text{ng/ml}$) e sem PGF ($3,6 \pm 2,0\text{ng/ml}$) também apresentaram níveis similares (Tabela 12).

Tabela 11 Análise da concentração de P_4 de acordo com o tratamento - com e sem PGF -, o grupo genético - *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bos indicus* x *Bos taurus* - e a interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas - Pindamonhangaba, 2003

VARIÁVEIS	TRATAMENTO	GRUPO GENÉTICO	INTERAÇÃO
	(Valor do P)	(Valor do P)	(Valor do P)
P_4 (D0)	0,61	0,45	0,45
P_4 (D3)	0,0007	0,005	0,94
P_4 (D6)	0,0001	0,001	0,84
P_4 (D8)	0,0001	0,001	0,45
P_4 (D10)	0,16	0,06	0,55
P_4 TOTAL	0,0001	0,0001	0,19

Tabela 12 -Concentrações de P₄ no D0, D3, D6, D8, D10 e total em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* tratadas com dispositivo intravaginal contendo progesterona, segundo o tratamento com prostaglandina no dia da inserção do dispositivo (D0) – Pindamonhangaba, 2003

Grupo genético	Tratamento	N	D0	D3	D6	D8	D10	P ₄ Total
			(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)	(ng/ml)
<i>B. indicus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	11	3,4 ± 2,9	5,0 ± 1,9 ^b	3,9 ± 1,8 ^{bc}	3,5 ± 2,1 ^b	0,4 ± 0,09 ^a	3,9 ± 0,3 ^{bc}
	Sem PGF	12	4,0 ± 2,3	8,4 ± 4,9 ^a	7,3 ± 3,0 ^a	6,9 ± 3,6 ^a	0,5 ± 0,07 ^a	6,8 ± 0,5 ^a
<i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	12	4,3 ± 2,2	4,6 ± 3,0 ^{bc}	2,8 ± 1,4 ^{cd}	2,5 ± 1,1 ^{bc}	0,3 ± 0,06 ^{ab}	3,6 ± 0,3 ^c
	Sem PGF	13	3,5 ± 1,6	6,8 ± 3,8 ^{ab}	5,1 ± 3,4 ^b	3,9 ± 2,3 ^b	0,4 ± 0,1 ^{ab}	4,9 ± 0,4 ^b
<i>B. taurus</i> ⁽¹⁾	Com PGF	11	2,8 ± 1,6	3,0 ± 2,4 ^c	1,9 ± 1,4 ^d	2,0 ± 1,0 ^c	0,2 ± 0,05 ^b	3,9 ± 0,3 ^d
	Sem PGF	12	3,2 ± 2,1	4,6 ± 1,6 ^{bc}	4,3 ± 2,4 ^{bc}	3,9 ± 2,7 ^b	0,3 ± 0,07 ^{ab}	6,8 ± 0,6 ^{bc}
EFEITOS PRINCIPAIS								
<i>B. indicus</i> ⁽¹⁾		23	3,7 ± 2,6	6,8 ± 4,1 ^a	5,7 ± 3,0 ^a	5,3 ± 3,4 ^a	0,5 ± 0,05 ^a	5,4 ± 0,4 ^a
<i>B. indicus</i> x <i>B. taurus</i> ⁽¹⁾		25	3,9 ± 1,9	5,7 ± 3,5 ^a	4,0 ± 2,9 ^b	3,3 ± 2,0 ^b	0,4 ± 0,06 ^{ab}	4,3 ± 0,3 ^b
<i>B. taurus</i> ⁽¹⁾		22	3,1 ± 1,9	3,9 ± 2,1 ^b	3,2 ± 2,3 ^b	3,0 ± 2,2 ^b	0,3 ± 0,04 ^b	3,3 ± 0,2 ^c
Com PGF ⁽¹⁾		33	3,6 ± 2,3	4,2 ± 2,6 ^b	2,9 ± 1,7 ^b	2,7 ± 1,6 ^b	0,3 ± 0,04	3,3 ± 0,2 ^b
Sem PGF ⁽¹⁾		37	3,6 ± 2,0	6,7 ± 3,9 ^a	5,6 ± 3,2 ^a	4,9 ± 3,1 ^a	0,4 ± 0,05	5,2 ± 0,3 ^a

⁽¹⁾ Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si (P < 0,05)

A inserção do dispositivo intravaginal no D0 elevou a concentração sérica de P_4 no D3 em todos os grupos experimentais (Gráfico 5). No entanto, a concentração de P_4 foi maior ($P<0,05$) nas novilhas *B. indicus* ($6,8 \pm 4,1\text{ng/ml}$) e *B. indicus* x *B. taurus* ($5,7 \pm 3,5\text{ng/ml}$) que nas novilhas *B. taurus* ($3,9 \pm 2,1\text{ng/ml}$). No D3 (Gráfico 5), as novilhas tratadas com PGF ($4,2 \pm 2,6\text{ng/ml}$) no momento da inserção do dispositivo apresentaram menor ($P<0,05$) concentração sérica de P_4 que as novilhas não tratadas ($6,7 \pm 3,9\text{ng/ml}$; Gráfico 6).

A concentração da P_4 circulante permaneceu elevada e foi maior ($P<0,05$) nas novilhas *B. indicus* no D6 ($5,7 \pm 3,0\text{ng/ml}$) e D8 ($5,3 \pm 3,4\text{ng/ml}$), enquanto nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* as concentrações de P_4 circulante declinaram no D6 ($4,0 \pm 2,9\text{ng/ml}$ e $3,2 \pm 2,3\text{ng/ml}$) e no D8 ($3,3 \pm 2,0\text{ng/ml}$ e $3,0 \pm 2,2\text{ng/ml}$), respectivamente (Gráfico 5). Similarmente, a concentração de P_4 circulante nas novilhas sem PGF declinou suavemente no D6 ($5,6 \pm 3,2\text{ng/ml}$) e no D8 ($4,9 \pm 3,1\text{ng/ml}$), embora tenha sido significativamente maior que nas novilhas tratadas com PGF no D6 ($2,9 \pm 1,7\text{ng/ml}$) e D8 ($2,7 \pm 1,6\text{ng/ml}$; Gráfico 6).

Após a retirada do dispositivo (D8), a concentração sérica da P_4 no D10 declinou rapidamente em todas as novilhas. No entanto, as novilhas *B. indicus* ($0,5 \pm 0,05\text{ng/ml}$) apresentaram maiores ($P<0,05$) níveis circulantes de P_4 48h após a retirada do dispositivo que as novilhas *B. taurus* ($0,3 \pm 0,04\text{ng/ml}$), enquanto a concentração de P_4 nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* ($0,3 \pm 0,06\text{ng/ml}$) foi semelhante àquela dos demais grupos experimentais (Gráfico 5). A administração de PGF ($0,3 \pm 0,04\text{ng/ml}$) no momento da inserção do dispositivo (D0) não teve efeito significativo na concentração sérica de P_4 ($0,4 \pm 0,05\text{mg/ml}$; Gráfico 6).

Gráfico 5 - Concentração sérica de progesterona durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus x Bos taurus* e *Bos taurus*. Pindamonhangaba, 2003.

Gráfico 6 - Concentração sérica de progesterona durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona conforme a administração de PGF no D0 em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. Pindamonhangaba, 2003.

A concentração sérica de P_4 total apresentou diferença significativa ($P < 0,05$) entre as novilhas *B. indicus* ($5,4 \pm 0,4 \text{ ng/ml}$), *B. indicus* x *B. taurus* ($4,3 \pm 0,3 \text{ ng/ml}$) e *B. taurus* ($3,3 \pm 0,2 \text{ ng/ml}$; Gráfico 7). A concentração de P_4 total foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas que não receberam PGF ($5,2 \pm 0,3 \text{ ng/ml}$) do que naquelas tratadas com PGF ($3,3 \pm 0,2 \text{ ng/ml}$; Gráfico 8).

Gráfico 7 - Concentração sérica de progesterona total durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. Pindamonhangaba, 2003

Gráfico 8 - Concentração sérica de progesterona total durante o tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona conforme a administração de PGF no Dia 0 em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. Pindamonhangaba, 2003

5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo fornecem evidências de que o protocolo com dispositivo intravaginal de P₄ associado ao BE - com e sem PGF - no D0 do ciclo estral provoca a atresia do FD presente no início do tratamento e sincroniza a emergência de uma nova onda de crescimento folicular em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus*. Tais achados são consistentes com aqueles relatados em investigações anteriores, nas quais foram utilizados E₂ e P₄ para sincronizar o desenvolvimento folicular em fêmeas bovinas (BÓ et al., 1995; BURKE et al., 2001; CAVALIERI et al., 1997; MORENO et al., 2001).

Está bem documentado que as elevações nas concentrações sanguíneas de FSH são as responsáveis pelo recrutamento folicular, e que o aumento nas concentrações de E₂, após o recrutamento, exerce um efeito de retroalimentação negativa na secreção de FSH. Evans et al. (1997) demonstraram que a secreção de andrógenos está inversamente relacionada às concentrações de FSH circulante, sugerindo que os andrógenos - bem como o E₂ - regulam o padrão de flutuação da secreção do FSH e a emergência de ondas de crescimento folicular. Para Bó et al. (2000), o mecanismo responsável pela supressão do crescimento folicular induzido pelo estrógeno parece ser mais sistêmico que local. Segundo Gibbons, Wiltbank e Ginther (1999), o estrógeno provavelmente desempenha um importante papel na supressão do FSH. Na presença de elevados níveis de P₄, o estrógeno também bloqueia de forma dose-dependente a liberação do LH, e pode influenciar a emergência da subsequente onda de crescimento folicular (BÓ et al., 1994).

Na presente investigação, o intervalo entre a inserção do dispositivo intravaginal de P_4 e a emergência da nova onda de crescimento folicular foi semelhante entre as novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* (Tabela 9). Entretanto, verificou-se que a emergência da nova onda de crescimento folicular ocorreu mais precocemente que nos estudos de Bó et al. (1995) – que utilizaram 5mg de E-17 β i.m. ($4,3 \pm 0,2$ dias) - e de Moreno et al. (2001) - que administraram 2mg de BE + 50mg de P_4 via i.m. ($4,0 \pm 0,2$ dias).

As variações observadas no dia da emergência da onda de crescimento folicular estão associadas à dose e à forma de preparação do E_2 utilizadas que, por sua vez, produzem diferentes efeitos sobre as concentrações de gonadotrofinas (MAPLETOFT et al., 2003). Os estrógenos são uma família de hormônios sintetizados nos ovários e estão distribuídos por todo o corpo, sendo que o E-17 β é o estrógeno primário mais potente, tanto em humanos quanto em animais. O processo de esterificação do E-17 β protege as moléculas desse grupo dos ataques metabólicos e, em função do tamanho e da posição da cadeia que liga o éster à matriz do esteróide, é conferida sua atividade biológica. Assim, as concentrações de E_2 no plasma atingem picos mais elevados após o tratamento com E-17 β do que após tratamentos com BE e VE, enquanto o cipionato de estradiol (ECP) – cuja cadeia é mais longa que a dos demais esteróides - possui atividade biológica mais prolongada que o E-17 β .

Recentemente, Martinez (2002) mostrou que as concentrações de FSH no plasma se elevaram antes, e atingiram maiores níveis, no grupo tratado com E-17 β , que nos grupos tratados com BE ou VE. Houve declínio das concentrações de FSH 60h após o tratamento com E-17 β . Nos grupos tratados com BE e VE, o início da elevação de FSH no plasma ocorreu aproximadamente 12 a 24h mais tarde que no

grupo E-17 β , ou seja, 3 a 4 dias nos animais tratados com E-17 β e 4 a 5 dias nos animais tratados com BE ou VE. O atraso no pico de FSH pode explicar a variabilidade na emergência da onda de crescimento folicular em animais tratados com 5mg de BE (BÓ et al., 1996) ou VE (BÓ et al., 1993). Em conjunto, esses resultados indicam que a secreção e a liberação do FSH dependem da dose de E₂, e que diferentes ésteres de E₂ suprimem a liberação de FSH por intervalos variáveis, dependendo do tempo que o E₂ permanece em altas concentrações na circulação (MAPLETOFT et al., 2003).

Considerando a variabilidade nas respostas aos tratamentos originalmente preconizados - com diferentes doses e preparações comerciais de estrógenos -, a estreita sincronia no dia de emergência da nova onda de crescimento folicular observada em todos os grupos genéticos (*B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus*) do presente estudo sugere que a dose de 2mg de BE i.m., utilizada no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄, tenha sido adequada para manter elevadas concentrações de E₂ na circulação. Com relação ao dia da emergência da nova onda, os resultados aqui encontrados são semelhantes aos relatados por Burke et al. (2001) - com a administração de 1 mg de BE i.m. (3,1 $\pm$ 0,1 dias) – e mais precoces que os de Moreno et al. (2001) – que utilizaram 2mg de BE e 50mg de P₄ (4,0 $\pm$ 0,2 dias), ambos administrados via i.m. no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄. Em parte, as diferenças quanto ao dia de emergência da onda de crescimento folicular encontradas nas várias investigações, podem ser explicadas pelo poder de resolução das imagens dos modernos equipamentos de ultra-som, os quais possibilitam maior precisão na identificação dos folículos no estágio inicial do desenvolvimento. A sincronia na emergência da nova onda de crescimento folicular tem importantes aplicações práticas durante o

processo de superovulação de doadoras e na técnica de aspiração folicular para fecundação *in vitro*.

Atualmente, a comunidade científica vem discutindo a necessidade da administração de P₄ i.m. (50 ou 100mg) associada à aplicação de BE i.m. no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄. Moreno et al. (2001) obtiveram emergência mais sincrônica da onda de crescimento folicular com a aplicação de 2mg de BE i.m. e de 50mg de P₄ i.m. na inserção do CIDR, enquanto Whittaker et al. (2002) não encontraram melhoria nos índices de prenhez com a administração adicional de 50mg de P₄ i.m. nos protocolos para IATF. A grande eficiência na sincronização da onda de crescimento folicular observada no presente estudo com a administração de BE sem P₄ i.m. sugere não ser necessária a aplicação suplementar desta última. O recente trabalho de Sá Filho et al. (2004) confirma que apenas a administração de BE é eficiente para sincronizar a onda de crescimento folicular.

O número de folículos recrutados (>2mm) no momento da emergência da nova onda de crescimento folicular foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas *B. indicus* que nas novilhas *B. taurus*; já a quantidade de folículos recrutados nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* foi similar às das novilhas *B. indicus* e *B. taurus* (Tabela 9). Esses resultados corroboram os achados de Alvarez et al. (2000), que estudaram a dinâmica folicular e quantificaram os folículos em vacas das raças Brahman ($39,0 \pm 4,0$), Senepol ($33,0 \pm 4,0$) e Angus ($21,0 \pm 4,0$) em ambiente subtropical. A interpretação desses dados com relação às populações foliculares sustenta os relatos de Segerson et al. (1984), que observaram maior número de folículos <5mm e menor número de folículos ≥ 5 mm nos ovários de novilhas *B. indicus* do que em novilhas *B. taurus*. Nesta investigação, o maior número de pequenos folículos

recrutados nas novilhas zebuínas que nas taurinas sugere maior atividade folicular em *B. indicus*.

O diâmetro do FD no dia da retirada do dispositivo intravaginal de P₄ (D8) constatado no presente estudo foi significativamente menor em novilhas *B. indicus* que em novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus*, enquanto as novilhas *B. taurus* tiveram diâmetro similar àquele dos demais grupamentos genéticos (Tabela 9). Cavalieri et al. (2002) notaram que novilhas Brahman apresentavam folículos de menor diâmetro ($9,1 \pm 0,6\text{mm}$) que novilhas cruzadas ($10,7 \pm 0,4\text{mm}$; $P=0,03$) quando submetidas a protocolos de sincronização da ovulação. Verificaram, também, que a presença de folículos de menor diâmetro no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P₄ estava associada à falha de ovulação e à redução do intervalo entre a emergência da onda de crescimento folicular e a ovulação. Para Mermillod et al. (1999), a proporção de oócitos capazes de se desenvolverem em oócitos competentes tende a aumentar em função do tamanho dos folículos.

O máximo diâmetro de FD no presente estudo foi menor ($P<0,05$) nas novilhas *B. indicus* que nas novilhas *B. taurus* e *B. indicus* x *B. taurus* (Tabela 9; Gráfico 3). Tais achados são consistentes com os de Figueiredo et al. (1997) em fêmeas da raça Nelore (10 a 12mm), Gambini et al. (1998) em vacas da raça Gir ($9,5 \pm 0,7\text{ mm}$), e Alvarez et al. (2000) em novilhas Brahman australianas (10,2 mm).

Os estudos iniciais empreendidos por Barros et al. (1993) e Rhodes, Death e Entwistle (1995) sugerem menor diâmetro do folículo ovulatório em fêmeas zebuínas que em taurinas (GINTHER; KNOPF; KASTELIC, 1989). Essas observações estão em concordância com os resultados do presente estudo, no qual constatou-se que as novilhas *B. indicus* apresentaram folículo ovulatório de menor diâmetro ($P<0,05$) do que as novilhas *B. indicus* x *B. taurus*; nas novilhas *B. taurus*, o diâmetro do

folículo ovulatório foi semelhante àquele das demais raças. Recentemente, Cavalieri et al. (2003) encontraram redução no diâmetro do folículo ovulatório após o tratamento com P_4 ou E_2 em vacas leiteiras, indicando que o protocolo para sincronização da ovulação pode interferir no diâmetro folicular.

As reduzidas taxas de crescimento (mm/dia) do FD observadas nas novilhas *B. indicus* estão possivelmente relacionadas às diferenças de padrões endocrinológicos de liberação de LH mediado pelas concentrações de P_4 circulantes existentes entre esse grupo genético e os demais avaliados no presente estudo. Com o auxílio da ultra-sonografia, Sirois e Fortune (1990) demonstraram que mudanças sutis nos níveis de P_4 podem alterar dramaticamente o padrão da dinâmica folicular. Tomados juntamente os resultados do Experimento 1 e do Experimento 2 conforme o grupamento genético, verificou-se que a taxa de crescimento do FD nas novilhas *B. indicus* foi menor ($P<0,05$) que nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* (Tabela 9; Gráfico 3). Tais achados são discretamente inferiores aos registros de Utt, Jousan e Beal (2003) - que observaram taxa de crescimento folicular de 1,2mm/dia em vacas Angus -, e similares aos resultados obtidos por Martinez et al. (2000) em novilhas cruzadas de corte (1,2 mm/dia). Embora a frequência dos pulsos de LH não tenha sido quantificada no presente experimento, pode-se hipotetizar que o aumento na taxa de crescimento do FD observado nas novilhas que receberam tratamento de PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal (D0) tenha sido mediado pelos efeitos reduzidos dos níveis de P_4 circulante e pelo aumento na frequência dos pulsos de LH. Assim, a maior taxa de crescimento ($P<0,05$) apresentada nas novilhas tratadas com PGF (Gráfico 4) sustenta a hipótese de que o desenvolvimento folicular difere após a administração de PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P_4

(D0). Novilhas tratadas com PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ apresentaram maior diâmetro do FD quando da retirada do dispositivo intravaginal de P₄ (D8) e no dia da administração do BE (D9), bem como aumento das taxas de crescimento folicular e ovulação ($P < 0,05$; Tabelas 9 e 10; Gráfico 4).

As falhas de ovulação observadas no presente estudo podem estar associadas à presença de folículos de menor diâmetro no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P₄. A taxa de ovulação nas novilhas *B. indicus* (39,1%) foi inferior ($P < 0,05$) àquela das novilhas *B. indicus* x *B. taurus* (84,0%) e *B. taurus* (72,7%). Resultados similares foram obtidos por Marques et al. (2003) em vacas Nelore x Angus (80,8%) e Cavalieri et al. (2002), que obtiveram taxa de ovulação intermediária (69,6%) em novilhas cruzadas. Visto que os folículos adquirem progressivamente receptores de LH e capacidade ovulatória na presença de um pico de LH (SPICER; ECHETERNKAMP, 1986), a baixa taxa de ovulação nas novilhas *B. indicus* do presente estudo pode ser explicada pela presença de folículos imaturos, incapazes de responder ao pico de LH induzido pela administração do BE. Em contraste, o aumento da taxa de ovulação (79,4%) nas novilhas do grupo de tratamento com PGF no momento da inserção do CIDR (D0) pode estar relacionado à presença de maior taxa de crescimento e maior diâmetro do FD (Tabelas 9 e 10).

Vários relatos têm indicado que o FD atinge o maior diâmetro quando se desenvolve em presença de concentrações subluteínicas de P₄ no plasma (SAVIO et al., 1993b; SIROIS; FORTUNE, 1990), associado ao aumento na frequência dos pulsos de LH (IRELAND; ROCHE, 1982; ROBERSON et al., 1989). Assim, a associação entre as concentrações de P₄ circulante, a frequência dos pulsos de LH e a taxa de crescimento do FD está representada pelos eventos que circundam a primeira onda de crescimento folicular (anovulatória) durante o ciclo estral natural.

Ginther, Kastelic, e Knopf (1989) relatam que o FD da primeira onda tem maior taxa de crescimento que o FD da segunda onda de crescimento folicular (ovulatória). Durante a fase luteínica inicial, as concentrações de P_4 são baixas e a frequência dos pulsos de LH mais elevada; já durante a metade da fase luteínica, as altas concentrações de P_4 reduzem a frequência e aumentam a amplitude dos pulsos de LH em bovinos (RAHE et al., 1980).

O aspecto original deste estudo foi o efeito do tratamento com o dispositivo intravaginal de P_4 sobre as concentrações séricas de P_4 . As novilhas *B. indicus* apresentaram concentrações de P_4 circulantes maiores durante o tratamento ($P < 0,05$), que as novilhas *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* (Tabela 12; Gráfico 5). Outro achado interessante da presente investigação foi que as novilhas *B. indicus* apresentaram maiores concentrações de P_4 - mesmo 48 h (D10) após a retirada do dispositivo intravaginal de P_4 e a aplicação de PGF (D8) - que as novilhas *B. taurus* (Tabela 12; Gráfico 5).

As concentrações de P_4 circulante no D3, no D6 e no D8 foram menores ($P < 0,05$) nas novilhas tratadas com PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P_4 (D0). Verificou-se, também, que a concentração de P_4 total (D0 a D8) nas novilhas tratadas com PGF foi menor ($P < 0,05$) que nas novilhas que não receberam PGF. Comparando os perfis de P_4 das novilhas tratadas com e sem PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P_4 (Gráfico 6), observou-se que aquelas submetidas a tratamento na presença do CL apresentaram elevação das concentrações de P_4 (6,5 ng/ml) no momento da emergência da nova onda de crescimento folicular (D3), com subsequente declínio, atingindo níveis próximos a 5ng/ml no momento da retirada do CIDR (D8). As novilhas que receberam PGF no D0 apresentaram discreta elevação nos níveis séricos de P_4 no D3 (entre 4 e

4,5ng/ml), níveis estes que declinaram até atingir <3ng/ml na retirada do dispositivo intravaginal de P₄ (D8). As concentrações de P₄ total (D0 a D8) nas novilhas tratadas com e sem PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (D0) diferiram significativamente, e atingiram níveis de 3,5ng/ml e 5,5ng/ml, respectivamente (Gráfico 8).

Considerando as diferenças nas concentrações de P₄ entre *B. indicus* e *B. taurus* (RANDEL, 1984; SEGERSON et al., 1984), os resultados do presente estudo sugerem que as altas concentrações de P₄ nas novilhas *B. indicus* possam ter influenciado os padrões de liberação de LH, o que é evidenciado pelo menor diâmetro do FD, do FO e das taxas de crescimento folicular e ovulação. Já as concentrações de P₄ circulante nas novilhas *B. taurus* permaneceram em níveis mais baixos (Tabelas 9 e 10), não comprometendo a frequência de liberação de LH e fazendo com que a taxa de crescimento folicular, o diâmetro do FD e do FO, e a taxa de ovulação alcançassem índices satisfatórios. Esses dados sustentam os achados de Cupp et al. (1993), os quais estudaram o efeito diferencial de duas concentrações de P₄ sobre as características do FD e demonstraram que vacas com baixas concentrações de P₄ (1 a 2 ng/ml) apresentaram folículos de maior diâmetro (17,3 mm x 12,6 mm; P< 0,05) e taxa de crescimento de 1mm/dia, quando comparadas àquelas cujas concentrações de P₄ eram altas (5–6 ng/ml). Subseqüentemente, Bergfeld et al. (1996), estudando as variações nas concentrações de P₄ circulante, observaram que as vacas tratadas com baixas concentrações de P₄ circulante apresentavam maior frequência na liberação pulsátil de LH e maior secreção de E₂. Entretanto, a peculiaridade da pesquisa desses autores foi a constatação de que a mudança abrupta nas concentrações da P₄ acelera uma cascata de eventos, modulando assim a liberação pulsátil de LH e a

função folicular. Nesse caso, o mecanismo responsável pela síntese e secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas – que é mediado pela P_4 - suprime a produção de GnRH no hipotálamo, que por sua vez induz o decréscimo na expressão do receptor de GnRH e a conseqüente redução na liberação de gonadotrofinas (NETT et al., 2002). Por outro lado, há também evidências de que o crescimento máximo do folículo requer concentrações adequadas de LH no momento em que desenvolve a capacidade ovulatória, ao redor de 10mm de diâmetro. Tais mudanças na responsividade do LH estão relacionadas ao aumento na expressão dos receptores nas células da granulosa constituindo-se, dessa maneira, em um componente importante do crescimento contínuo do FD (SARTORI et al., 2001).

O presente estudo caracterizou os efeitos das concentrações séricas de P_4 na dinâmica folicular em *B. indicus* (Nelore e Gir), *B. taurus* (Angus e HPB) e seus respectivos cruzamentos. Considerando que a quantidade de P_4 liberada pelo CIDR possa atingir concentrações em torno de 5-6ng/ml (MACMILLAN et al., 1991), os resultados aqui encontrados sugerem que as concentrações séricas de P_4 durante o tratamento com dispositivo intravaginal de P_4 foram influenciadas pelo grupo genético. Esses achados demonstram que o efeito do tratamento com dispositivo intravaginal de P_4 e os altos níveis das concentrações séricas de P_4 observados nas novilhas *B. indicus* podem estar relacionados ao metabolismo lento da P_4 que, nesse grupo genético, bloqueia intensamente a frequência e a liberação pulsátil do LH; já nas novilhas *B. taurus* o metabolismo provavelmente é mais intenso, resultando em níveis séricos mais baixos de P_4 que, por sua vez, interferem menos na frequência e na liberação dos pulsos de LH e na dinâmica folicular das raças européias tratadas com dispositivo intravaginal de P_4 . Uma outra possibilidade estaria relacionada ao aumento na absorção vaginal de progesterona em novilhas *Bos indicus*, que se

refletiria no aumento das concentrações circulante desse hormônio durante o tratamento.

Diskin, Austin e Roche (2002) consideram que, em função do período de duração da onda de crescimento folicular - de aproximadamente 7–10 dias - e dos eventos envolvidos nos diferentes estágios de crescimento - emergência, seleção, dominância e atresia ou ovulação -, o FD capaz de ovular está presente somente em períodos específicos de cada onda de crescimento folicular. Portanto, o intervalo entre a luteólise induzida exogenamente ou a retirada do tratamento com progestágeno para sincronizar o cio e a ovulação depende do estágio da onda de crescimento folicular. No presente experimento, o intervalo entre a retirada do CIDR (D8) e a ovulação foi maior ($P < 0,05$) nas novilhas *B. indicus* que nas novilhas *B. taurus*, mas não foi significativamente afetado pela administração de PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P_4 (D0). Em contraste, Cavalieri et al. (1997) obtiveram menor intervalo entre a retirada do implante de progestágeno e a ovulação (67–69h), e estreita sincronia do cio/ovulação, em vacas *B. indicus* tratadas com norgestomet-estradiol. Assim, os resultados aqui verificados sugerem que diferentes níveis séricos de P_4 em *B. indicus* alteram o diâmetro do FD, e podem aumentar o intervalo entre a retirada do dispositivo intravaginal de P_4 e a ovulação.

O dia de emergência da nova onda de crescimento folicular foi semelhante entre as novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus* (Tabela 9). Por outro lado, o FD das novilhas *B. indicus* durante o tratamento com dispositivo intravaginal de P_4 teve diâmetro menor ($P < 0,05$) e não atingiu o estágio de desenvolvimento adequado, diferentemente do que ocorreu com os FDs das novilhas *B. taurus* e *B. indicus* x *B. taurus*. As novilhas tratadas com PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P_4 (D0) apresentaram FD de maior diâmetro ($P < 0,05$), e

intervalo entre a retirada do dispositivo intravaginal de P₄ (D8) e a ovulação numericamente menor que as novilhas do grupo que não recebeu PGF. Nesse sentido, Driancourt (2001) considera que o estágio de desenvolvimento do FD quando da retirada do dispositivo de progestágeno/progesterona deve estar estreitamente relacionado ao momento do cio e da ovulação, e a assincronia da onda de crescimento folicular pode provocar variação no tamanho do FD, o que resulta em baixa sincronia da ovulação. Tais observações coincidem com os achados de Utt, Jousan e Beal (2003) que, trabalhando com vacas Angus (*Bos taurus*), constataram a existência de uma correlação linear ($P < 0,001$) e quadrática ($P < 0,001$), entre o diâmetro do FD na retirada do CIDR e a ovulação, ou seja, em vacas que apresentaram FD de maior diâmetro à retirada do CIDR, o intervalo para o início do estro foi menor do que em animais que apresentavam FD de menor diâmetro. Segundo os autores, uma vez concluído o tratamento de sincronização, o momento desses eventos procede de maneira relativamente normal, e é ditado pelo desenvolvimento do FD pré-ovulatório. Savio et al. (1993b) também relataram correlação similar entre o maior diâmetro do FD no momento da retirada do progestágeno e a luteólise, com conseqüente manifestação precoce do estro.

A eficiência máxima de um sistema de sincronização do cio/ovulação em bovinos é determinada pela capacidade de induzir a ovulação em tempo previsível, de maneira que um grande número de fêmeas possam ser inseminadas sem a necessidade de detecção de cio (LEMASTER et al., 2001). Em geral, a baixa fertilidade após a IATF tem sido atribuída à falta de sincronia do cio/ovulação ou à ovulação de um oócito envelhecido em conseqüência do período prolongado de crescimento folicular, tipicamente associado com os folículos persistentes (AHMAD et al., 1995). Com efeito, as inseminações com ovulação de FDs persistentes estão

sempre relacionadas a reduzidas taxas de prenhez em comparação àquelas realizadas com FDs no estágio normal de desenvolvimento (STOCK; FORTUNE, 1993).

Os resultados deste experimento sugerem aparente comprometimento no perfil de crescimento do FD nas novilhas *Bos indicus*. Considerando o efeito supressivo do tratamento com dispositivo intravaginal de P₄ sobre as concentrações de LH e a capacidade de ovulação em resposta ao pico de LH, os folículos ovarianos das novilhas *Bos indicus* que não ovularam provavelmente poderiam estar imaturos, e não adquiriram a competência ovulatória. Por conseguinte, se baixas concentrações de P₄ resultam em aumento no tamanho do FD (BERGFELT; KASTELICK; GINTHER, 1991) ou estendem o seu período de dominância (SIROIS; FORTUNE, 1990), altas concentrações de P₄ podem induzir a atresia do FD; esse fenômeno foi claramente demonstrado no modelo de FD persistente proposto por Sirois e Fortune (1990). Dessa forma, a estreita relação entre o perfil de crescimento do FD e o momento da ovulação observada neste estudo entre as novilhas *B. indicus* x *B. taurus* e as novilhas *B. taurus*, bem como o resultado da satisfatória taxa de ovulação nesses grupos, sugerem que o tratamento com dispositivo intravaginal de P₄ e BE para sincronização da ovulação em *B. taurus* e cruzamentos com *B. indicus* pode ser recomendado para programas de IATF. Já a baixa taxa de ovulação verificada em novilhas *B. indicus* evidencia reduzido potencial para o uso do protocolo como estratégia para a IATF nesse grupo genético.

Randel (1989) observou que os CLs de fêmeas zebuínas e de seus cruzamentos com *B. taurus* têm menor conteúdo de P₄ por grama de tecido luteínico do que os CLs de fêmeas das raças *B. taurus*. Constatou também que, nos dias 8 e 13 do ciclo estral, as concentrações plasmáticas de P₄ das novilhas *B. indicus* são

inferiores às das novilhas *B. taurus*; no dia 17 do ciclo estral, a comparação entre essas duas subespécies indicou em menor concentração de P_4 nas fêmeas zebuínas.

Os resultados do presente estudo demonstram que a ovulação de pequenos folículos em novilhas *B. indicus* está associada ao menor diâmetro do CL e à redução das concentrações de P_4 circulante pós-ovulação, comparada à ovulação de folículos de maior diâmetro nas novilhas *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus*. Esses achados são semelhantes aos relatados por Moreira et al. (2000) que, investigando novilhas leiteiras, encontraram uma associação positiva entre a ovulação de FO ≤ 12 mm de diâmetro e baixas concentrações de P_4 no plasma. O estudo subsequente de Cavalieri et al. (2002) em novilhas *B. indicus* também demonstrou que a ovulação de pequenos folículos e a baixa concentração de P_4 pós-ovulação, poderiam estar associadas à presença de menor número de células luteínicas esteroidogênicas. Adicionalmente, a ovulação de folículos imaturos tem sido sugerida como a principal causa da inadequada competência funcional (GARVERICK; ZOLLERS; SMITH, 1992) e a redução do diâmetro do CL no ciclo estral subsequente (VASCONCELOS et al., 1998).

A análise preliminar dos dados das variáveis diâmetro e área do CL apresentou interação significativa (Tabela 7), razão pela qual os resultados foram discutidos separadamente. No presente estudo, o diâmetro do CL foi similar entre as novilhas Nelore (*B. indicus*) e Angus (*B. taurus*), enquanto nas novilhas Gir (*B. indicus*) o diâmetro do CL foi menor ($P < 0,05$) que nas novilhas HPB (*B. taurus*). Os resultados observados nas novilhas Nelore, mas não aqueles das novilhas Gir, contrariam os relatos prévios de Randel (1989) e Figueiredo et al. (1997) que demonstraram menor diâmetro do CL em fêmeas Nelore do que em fêmeas *B.*

taurus. Alvarez et al. (2000) também encontraram aumento no diâmetro do CL quando compararam vacas Brahman (*B. indicus*) e a vacas Angus ($16,4 \pm 0,3$ mm x $15,0 \pm 0,3$ mm), embora sem significância estatística. É provável que o menor diâmetro do CL nas novilhas Angus esteja relacionado ao pequeno porte dos animais destinados à produção de carne; enquanto o maior diâmetro do CL nas novilhas HPB pode ser explicado pelo substancial desenvolvimento corporal da raça holandesa e pela intensidade de seleção das características produtivas e reprodutivas a que foram submetidas ao longo do tempo.

Nesta investigação, os resultados referentes à área do CL foram similares aos resultados obtidos no diâmetro do CL. As novilhas Nelore x Angus apresentaram área de CL maior ($P < 0,05$) que as novilhas Nelore, mas semelhante àquela das novilhas Angus, enquanto nas novilhas Gir x HPB a área do CL foi similar àquela das novilhas Gir e significativamente menor que a das novilhas HPB. Os resultados apresentados pelas novilhas Gir x HPB e Nelore x Angus estão consistentes com os relatos de Baruselli et al. (2001) - os quais obtiveram área de CL de $2,15 \pm 0,46\text{cm}^2$ em novilhas girolando receptoras de embriões -, e de Marques et al. (2003) - que observaram área de CL de $1,84 \pm 0,05\text{cm}^2$ em vacas meio sangue Nelore x Angus durante o período pós-parto.

6 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo confirmam e aceitam as hipóteses propostas e permitem concluir que:

- ❑ A administração de 2mg de benzoato de estradiol associado ao dispositivo de progesterona no início do tratamento provocou atresia folicular e emergência sincrônica de uma nova onda de crescimento folicular em todas as novilhas *B. indicus*, *B. Indicus* x *B. taurus* e *B. taurus*.
- ❑ Novilhas *B. indicus* apresentaram maior número de folículos no início da onda de crescimento folicular que novilhas *B. taurus*.
- ❑ Novilhas *B. indicus* apresentaram menor taxa de crescimento (mm/dia), menor diâmetro máximo do FD e menor taxa de ovulação que novilhas *B. taurus*.
- ❑ O tratamento com PGF no Dia 0 aumentou a taxa de crescimento folicular, o diâmetro máximo do FD e a taxa de ovulação em novilhas.
- ❑ Novilhas *B. indicus* apresentaram maior intervalo entre a retirada do dispositivo intravaginal de P₄ e a ovulação que novilhas *B. taurus*.
- ❑ A concentração sérica de progesterona durante o tratamento com o dispositivo intravaginal de P₄ foi mais elevada em novilhas *B. indicus*.
- ❑ A aplicação de PGF no Dia 0 diminuiu a concentração sérica de P₄ durante o tratamento.

REFERÊNCIAS¹

ADAMS, G. P. Control of ovarian follicle wave dynamics in cattle: Implications for synchronization and superestimulation. **Theriogenology**, v. 41, p. 19-24, 1994.

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; KASTELIC, J. P.; KO, J. C. H.; GINTHER, O. J. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 94, p. 177-188, 1992.

ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A. Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. **Theriogenology**, v. 43, p. 113-120, 1995.

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

ALVAREZ, P.; SPICER, L. J.; CHASE Jr., C. C.; PAYTON, M. E.; HAMILTON, T. D.; STEWART, R. E.; HAMMOND, A. C.; OLSON, T. A.; WETTEMANN, R. P. Ovarian and endocrine characteristics during and estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 1291-1302, 2000.

BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PAPA, F. O.; ROCHA, G. Follicular growth in Nelore cows (*Bos indicus*) after PGF₂ α administration. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 216. 1993 (Abstr.). Suplementum 1.

BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; PINHEIRO, O. L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 19, p. 9-12, 1995.

BARROS, C. M.; MOREIRA, M. B. P.; FERNANDES, P. Pharmacological manipulation of the oestrous cycle to improve artificial insemination or embryo transfer programs. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, Brasil, p. 179-198, 1998. Suplemento 26.

BARROS, C. M.; MOREIRA, M. B. P.; FIGUEIREDO, R. A.; TEIXEIRA, A. B.; TRINCA, L. A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF₂ α and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 53, p. 1121-1134, 2000.

¹ Conforme as diretrizes para apresentação de dissertações e teses na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 4. e.d. São Paulo: FMVZ/USP, 2003. 84 p.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O. Programas de IA a tempo fixo en *Bos indicus*. Segunda Parte. **Taurus**, v. 13, p. 9-21, 2001.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R.; BÓ, G. A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices and eCG. **Theriogenology**, v. 55, p. 157, 2001. (Abstr.).

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

BEG, M. A.; BERGFELT, D. R.; KOT, K.; WILTBANK, M. C. W.; GINTHER, O. J. Follicular fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 432-441, 2001.

BERGFELD, E. G. M.; KOJIMA, F. N.; CUPP, A. S.; WEHRMAN, M. E.; PETERS, K. E.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; KINDER, J. E. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 β - oestradiol in bovine females. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 546-553, 1996.

BERGFELD, E. G. M.; KOJIMA, F. N.; WEHRMAN, M. E.; CUPP, A. S.; PETERS, K. E.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; KITTOCK, R. J.; GARCIA-WINDER, M.; KINDER, J. E. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17 β -oestradiol concentration in cows is related to concentration of progesterone in circulation when the progesterone comes from either an endogenous or exogenous source. **Animal of Reproduction Science**, v. 37, p. 257-265, 1995.

BERGFELT, D. R.; KASTELICK, J. P.; GINTHER, O. J. Continued periodic emergence of follicular waves in non-breed progesterone-treated heifers. **Animal of Reproduction Science**, v. 24, p. 193-204, 1991.

BÓ, G. A. Sincronizacion celos para programas de inseminacion artificial y transferencia de embriones bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE CONTROLE FARMACOLÓGICO DO CICLO ESTRAL EM RUMINANTES, 2000, São Paulo, **Anais...** São Paulo, 2000. p. 35-60.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; MARTÍNEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and oestradiol in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v. 39, p. 193-204, 1995.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; NASSER, L. F.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v. 40, p. 225-239, 1993.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of progestogen plus E-17 β treatment on superovulatory response in beef cattle. **Theriogenology**, v. 45, p.897-910, 1996.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Local versus systemic effects of exogenous estradiol on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen ear implant. **Animal of Reproduction Science**, v. 59, p. 141-157, 2000.

BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRIBULO, H. E.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, p.1555-1569, 1994.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53-72, 2002.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; TRIBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primeira Parte. **Taurus**, v. 14, p. 10-21, 2002.

BODENSTEINER, K. J.; WILTBANK, M. C.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles. **Theriogenology**, v. 45, p. 499-512, 1996.

BURATINI JR. , J.; PRICE, C. A.; VISINTIN, J. A.; BÓ, G. A. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (bst) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v. 54, p. 421-431, 2000.

BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal of 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 potencial ovulatory follicle on induction of oestrous and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal of Reproduction Science**, v. 66, p. 161-174, 2001.

BURKE, J. M.; DE LA SOTA, R. L.; RISCO, C. A.; STAPLES, C. R.; SCHMITT, E. J. P.; THATCHER, W. W. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 1385-1393, 1996.

CASTILHO, C.; DAYAN, A.; BARROS, C. M. Responsiveness of Nelore cows corpus luteum to PGF₂ α , administered intramuscularly or via submucosa vulvar. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, p. 205, 1997. Suplemento.

CAVALIERI, J.; COLEMAN, C.; RODRIGUES, H.; MACMILLAN, K. L.; FITZPATRICK, L. A. The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronized with a progesterone releasing intravaginal insert. **Australian Veterinary Journal**, v. 80, p. 217-223, 2002.

CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; PARKER, K. I.; WRIGHT, P. J.; MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and concentrations in holstein cows. **Animal of Reproduction Science**, v. 76, p. 177-193, 2003.

CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J. E.; ENTWISTLE, K. W.; FITZPATRICK, L. A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, p. 801-814, 1997.

CHRISTIAN, R. E.; CASIDA, L. E. The effect of progesterone in altering the oestrus cycle of the cow. **Journal of Animal Science, Abstracts...** v. 7, 540 p. 1948.

CHUN, S. Y.; BILIG, H.; TILLY, J. L.; FURUTA, I.; TSAFRIRI, A.; HSUEH, A. J. W. Gonadotropin suppression of apoptosis in cultured preovulatory follicles: mediatory role of endogenous insulin-like growth factor I. **Endocrinology**, v. 135, p. 1845-1853, 1994.

COLAZO, M. G.; SEFCHEK, M.; ILLUMINATI, H.; MEGLIA, G.; SCHMIDT, E.; BÓ, G. A. Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 51, p. 404, 1999. (Abstr.).

COOPER, M. J. Control of oestrus cycle of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. **Veterinary Record**, v. 95, p. 200-203, 1974.

CORDOBA, M. C.; FRICKE, P. M. Initiation of the breeding season in a grazing-based dairy by synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 1752-1763, 2002.

CUPP, A.; GARCIA-WINDER, M.; ZAMUDIO, A.; MARISCAL, V.; WEHRMAN, M.; KOJIMA, N.; PETERS, K.; BERGFELD, E.; HERNANDEZ, P.; SANCHEZ, T.; KITTOCK, R.; KINDER, J. Concentration of progesterone (P₄) in circulation has differential effect on biochemical characteristics of dominant follicles in cows. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 211, 1993. Supplementum 1.

CUTAIA, L.; TRIBULO, R.; ALISIO, L.; TEGLI, J. C.; MORENO, D.; BÓ, G. A. Efecto de los tratamientos con dispositivos DIV-B nuevos o reutilizados en los índices de preñez en vacas y vaquillonas inseminadas a tiempo fijo (IATF). 4° SIMPOSIO DE REPRODUCCION ANIMAL – 22-24 Junio, 2001, Huerta Grande, Córdoba. **Proceeding...**p. 244.

CUTAIA, L.; TRIBULO, R.; MORENO, D.; BÓ, G. A. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). **Theriogenology**, v.59, p. 216, 2003. (Abstr.).

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

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

ERICKSON, B. H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science**, v. 25, p. 800-805, 1966.

EUCLIDES FILHO, K. O melhoramento genético e os cruzamentos em bovinos de corte. **Embrapa Gado de Corte**, 1996. Campo Grande. 35 p.

EVANS, A. C. O.; KOMAR, C. M.; WANDJI, S. A.; FORTUNE, J. E. Changes in androgen secretion and luteinizing hormone pulse amplitude are associated with the recruitment and growth of ovarian follicles during the luteal phase of the bovine estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 394-401, 1997.

FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A. B.; CROCCI, A. J.; BARROS, C. M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF₂α and estradiol benzoate (EB). **Theriogenology**, v.55, p. 1521-1532, 2001.

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

FIKE, K. E.; DAY, M. L.; INSKEEP, E. K.; KINDER, J. E.; LEWIS, P. E.; SHORT, R. E.; HAFS, H. D. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 2009-2015, 1997.

GAMBINI, A. L. G.; MOREIRA, M. B. P.; CASTILHO, C.; BARROS, C. M. Desenvolvimento folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça Gir. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 22, p. 201-210, 1998.

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

GENOMA funcional do boi. *Revista DBO*, v. 22, n. 271, p. 116-124, 2003.

GIBBONS, J. R.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Functional interrelationship between follicles greater than 4mm and the FSH surge in heifers, **Biology of Reproduction**, v. 57, p. 1066-1073, 1997.

GIBBONS, J. R.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Relationship between follicular development and the decline in the follicle-stimulating hormone surge in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 60, p. 72-77, 1999.

GINTHER, O. J. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Animal of Reproduction Science**, v. 60, p. 61-79, 2000.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal of Reproduction Science**, v. 20, p. 187-200, 1989.

GINTHER, O. J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J. P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 87, p. 223-230, 1989.

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

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

GIRMUS, R. L.; WISE, M. E. Progesterone directly inhibits pituitary luteinizing hormone secretion in an estradiol-dependent manner. **Biology of Reproduction**, v. 46, p. 710-714, 1992.

GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A.; GUTIERREZ, C. G.; PETERS, A. R.; WEBB, R. Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 105, p. 263-270, 1995.

GONG, J. G.; BRAMLEY, T. A.; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. **Biology of Reproduction**, v. 45, p. 941-949, 1991.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 57, p. 404-424, 1983. Supplementum 2.

HIRSHFIELD, A. N. Development of follicles in the mammalian ovary. **International Review of Cytology**, v. 124, p. 43-101, 1991.

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

KARSCH, F. J.; FOSTER, D. L.; LEGAN, S. J.; RYAN, K. D.; PETER, G. K. Control of preovulatory endocrine events in the ewe, interrelationship of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone. **Endocrinology**, v. 105, p. 421-426, 1979.

KARSCH, F. J.; CUMMINS, J. T.; G. B.; CLARKE, I. J. Steroid feedback inhibition of pulsatile secretion of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Biology of Reproduction**, v. 36, p. 1207-1218, 1987.

KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandin F_{2α} treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal of Reproduction Science**, v. 23, p. 169-180, 1990.

KERR, D. R.; MCGOWAN, M. R.; CARROL, C. L.; BALDOCK, F. C. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed *Bos indicus* and *Bos indicus/taurus* heifers in Northern Australia. **Theriogenology**, v.36, p. 129-141, 1991.

KINDER, J. E.; KOJIMA, F. N.; BERGFELD, E. G. M.; WEHRMA, M. E.; FIKE, K. E. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1424-1440, 1996.

KNOPF, L.; KASTELIC, J. P.; SCHALLENBERGER, E.; GINTHER, O. J. Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 6, p. 111-119, 1989.

LAUDERDALE, J. W. Effects of PGF₂ α on pregnancy and oestrus cycle of cattle. **Journal of Animal Science**, v. 35, p. 247, 1972. (Abstr.).

LAVERDIERE, G.; ROY, G. L.; LAVOIE, D.; DUFOUR, J. J. Estrus synchronization efficiency of PGF₂ α injection in Shorthorn-Hereford and crossbred Charolais cattle not having exhibited estrus at 4 or 7 days prior to treatment. **Theriogenology**, v.43, p. 899-991, 1995.

LEMASTER, J. W.; YELICH, J. V.; KEMPFER, J. R.; FULLEENMWIDER, J. K.; BARNETT, C. L.; FANNING, M. D.; SELPH, J. F. Effectiveness of GnRH plus prostaglandin F₂ α for estrus synchronization in cattle of *Bos indicus* breeding. **Journal of Animal Science**, v. 79, p. 309-316, 2001.

LEMASTER, J. W.; YELICH, J. V.; KEMPFER, J. R.; SCHRICK, F. N. Ovulation and estrus characteristics in crossbreed Brahman heifers treated with an intravaginal progesterone-releasing insert in combination with prostaglandin F₂ α and estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v. 77, p. 1860-1868, 1999.

LEMON, M. The effect of oestrogens alone or in association with progestagens on the formation and regression of the corpus luteum of the cyclic cow. **Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.**, v.15, p. 243-253, 1975.

LUSSIER, J. G.; DUFOUR, J. J.; MATTON, P. Growth rates of follicles in the bovine ovary. **Journal of Animal Science**, v. 51, p. 353, 1983. Supplementum 1.

LUSSIER, J. G.; MATTON, P.; DUFOUR, J. J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 81, p. 301-307, 1987.

MACMILLAN, K. L. Pharmacological control of the oestrus cycle to improve the reproductive performance of cattle. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 61-64, 1999.

MACMILLAN, K. L.; BURKE, C. R. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. **Animal of Reproduction Science**, v. 42, p. 307-320, 1996.

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

MACMILLAN, K. L.; TAUFA, V. K.; BARNES, D. R.; DAY, A. M. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. **Animal of Reproduction Science**, v. 26, p. 25-40, 1991.

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

MAPLETOFT, R. J.; COLAZO, M. G.; MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P. Ésteres de estrógeno para la sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados com dispositivos com progesterona. In: V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL – 27-29 Jun., 2003, Huerta Grande, Córdoba. **Proceedings...** p. 55-67.

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 taurus* x *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL – 27-29 Junio, 2003, Huerta Grande, Córdoba. v. 1, p. 392, 2003.

MARTINEZ, M. F. Synchronization of follicular wave dynamics and ovulation for fixed-time artificial insemination in cattle. PhD thesis, University of Sas Kaskatchewan, 2002; chapter 5. In : MAPLETOFT, R. J. ; COLAZO, M. G. ; MARTÍNEZ, M. F. ; KASTELIC, J. P. Ésteres de estrógeno para la sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados com dispositivos com progesterona. V SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL – 27-29 Junio, 2003, Huerta Grande, Córdoba. **Proceedings...** p. 55-67.

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

MARTINEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R.; MAPLETOFT, R. J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. **Theriogenology**, v. 54, p. 757-769, 2000.

MATTON, P.; ADELAKOUN, V.; COUTURE, Y.; DUFOUR, J. J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 52, p. 813-820, 1981.

MERMILLOD, P.; OUSSAID, B.; COGNIÉ, Y. Aspects of follicular and oocyte maturation that affect the developmental potential of embryos. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54, p. 449-460, 1999. Suplemento.

MIHM, M.; BAGUISI, A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 123-130, 1994.

MIHM, M.; CROWE, M. A.; KNIGHT, P. G.; AUSTIN, E. J. Follicle wave growth in cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 37, p. 191- 200, 2002.

MILVAE, R. A.; HINCKLEY, S. T.; CARLSON, J. C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. **Theriogenology**, v.45, p. 1327-1349, 1996.

MOFFAT, R. J.; ZOLLERS, W. G.; WELSHONS, JR. W. W.; KIEBORZ, K. R.; GARVERICK, H. A.; SMITH, M. F. Basis of norgestomet action as a progestogen in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 10, p. 21-30, 1993.

MONNIAUX, D.; MONGET, P.; BESNARD, N.; PISSELET, C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. **Theriogenology**, v. 47, p. 3-12, 1997.

MOODY, E. L.; LAUDERDALE, J. W. Fertility of cattle following PGF₂ α controlled ovulation. **Journal of Animal Science**, v.45 , p. 189, 1977. (Abstr.).

MOREIRA, F.; DE LA SOTA, R. L.; DIAZ, T.; THATCHER, W. W. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v.78 , p. 1568-1576, 2000.

MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, L.; ORTISI, F.; BÓ, G. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v. 55, p. 408, 2001. (Abstr.)

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.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68 , p. 817-830, 1990.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Follicular populations during the estrous cycle in heifers : I. Influence of day. **Animal of Reproduction Science**, v. 14, p. 165-176, 1987.

PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonograph of the bovine ovary. **Theriogenology**, v. 21, p. 495-504, 1984.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; VALLE, E. R.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂ or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.

PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTBANK, M. C. Reproductive manegement of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 301-307, 1997.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C.; STEVENSON, J. S.; OTTOBRE, J. S.; GARVERICK, H. A.; ANDERSON, L. L. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronization ovulation or synchronized estrus. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 295-300, 1997.

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.

RAJAKOSKI, E. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. **Acta Endocrinology**, v. 34, p. 7-68, 1960. Supplementum 52.

RAJAMAHENDRAN, R.; MANIKKAN, M. Effects of exogenous steroid hormones on the dominant follicle maintained by a norgestomet implant in heifers. **Canadian Journal of Animal Science**, v.74, p. 457-464, 1994.

RANDEL, R. D. LH and ovulation in Brahman, Brahman X Hereford and Hereford heifers. **Journal of Animal Science**, v.43, p. 300, 1989.

RANDEL, R. D. Seasonal effects on female reproductive function in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v. 21, p. 170-185, 1984.

RHODES, F. M.; DEATH, G.; ENTWISTLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. **Animal of Reproduction Science**, v. 38, p. 265-277, 1995.

RHODES, F. M.; FITZPATRICK, L. A.; ENTWISTLE, K. W.; KINDER, J. E. Hormone concentrations in the caudal vena cava during the first ovarian follicular wave of the oestrous cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 33-39, 1995.

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

ROCHE, J. F. Effect of short-term progesterone treatment on oestrous response and fertility in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 40, p. 433-440, 1974.

ROCHE, J. F.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. **Animal of Reproduction Science**, v. 28, p. 371-378, 1992.

ROCHE, J. F.; IRELAND, J.; MAWHINNEY, S. Control and induction of ovulation in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 30, p. 211-222, 1981.

SÁ FILHO, M. F.; AMARAL, J. P. B.; MANTOVANI, A. P.; REIS, E. L.; NICHI, M.; BARUSELLI, P. S. Effect of synthetic progesterone (Afisterone®) administration at the moment of CIDR® insertion on follicular wave emergence in beef heifers. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION . Porto Seguro, Bahia - ..- ..Agosto 2044. (aceito para publicação no ICAR 2004).

SARTORI, R.; FRICKE, P. M.; FERREIRA, J. C. R.; GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v. 65, p. 1403-1409, 2001.

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

SAVIO, J. D.; THATCHER, W. W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R. L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 197-203, 1993a.

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 device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 98, p. 77-84, 1993b.

SCHMITT, E. J. P.; DIAZ, T.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 1084-1091, 1996.

SEGERSON, E. C.; HANSEN, T. R.; LIBBY, D. W.; RANDEL, R. D.; GETZ, W. R. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v.59 , p. 1026-1046, 1984.

SIMPSON, R. B.; CHASE JR, C. C.; SPICER, L. J.; VERNON, R. K.; HAMMOND, A. C.; RAE, D. O. Effect of exogenous insulin on plasma and follicular insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein activity, follicular oestradiol and progesterone, and follicular growth in superovulated Angus and Brahman cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 102, p. 483-492, 1994.

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

SIROIS, J.; FORTUNE, J. E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonograph. **Biology of Reproduction**, v. 39, p. 308-317, 1988.

SPICER, L. J.; ALPIZAR, E.; ECHETERNKAMP, S. E. Effects of insulin, insulin-like growth factor I, and gonadotropins on bovine granulosa cell proliferation, progesterone production, estradiol production, and (or) insulin-like growth factor I production in vitro. **Journal of Animal Science**, v. 71, p. 1232-1241, 1993.

SPICER, L. J.; ECHETERNKAMP, S. E. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle : A review. **Journal of Animal Science**, v.62 , p. 428-451, 1986.

STEWART, R. E.; SPICER, L. J.; HAMILTON, T. D.; KEEFER, B. E.; DAWSON, L. J.; MORGAN, G. L.; ECHETERNKAMP, S. E. Levels of insulin-like growth factor (IGF) binding proteins, luteinizing hormone and IGF-I receptors and steroids in dominant follicles during the first follicular wave in cattle exhibiting regular estrous cycle. **Endocrinology**, v. 137, p. 2842-2850, 1996.

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.

STUMPF, T. T.; DAY, M. L.; STOTTS, J. A.; WOLFE, M. W.; PENNEL, P. L.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Effect of oestradiol on luteinizing hormone secretion during the follicular phase of the bovine estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v. 41, p. 91-99, 1989.

STUMPF, T. T.; ROBERSON, M. S.; WOLFE, M. W.; HAMEMIK, D. L.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Progesterone 17 β -estradiol, and opioid neuropeptides modulate pattern of luteinizing hormone in circulation of cow. **Biology of Reproduction**, v. 49, p. 1096-1101, 1993.

SUNDERLAND, S. J.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F.; IRELAND, J. J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 101, p. 547-555, 1994.

TANABE, T. Y.; HANN, R. C. Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F₂ α . I. Influence of stage of cycle at treatment. **Journal of Dairy Science**, v. 58, p. 805-811, 1984.

TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Effect of mid-luteal phase progesterone levels on the first wave dominant follicle in cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 74, p. 281-285, 1994.

THATCHER, W. W.; MACMILLAN, K. L.; HANSEN, P. J.; DROST, M. Concepts for the regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. **Theriogenology**, v. 31, p. 149-164, 1989.

TOUATI, K.; BECKERS, J. F.; ECTORS, F. J.; ECTORS, F. Mise au point sur la folliculogénèse. **Annales de Médecine Veterinaire**, v. 133, p. 583-588, 1989.

TRIMBERGER, G. W.; HANSEL, W. Conception rate and ovarian function following oestrus control by progesterone injections in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 14, p. 224-232, 1955.

TURNBULL, K. E.; BRADEN, A. W. H.; MATTUER, P. E. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. **Australian Journal Biology Science**, v. 30, p. 229-232, 1977.

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

UTT, M. D.; JOUSAN, F. D.; BEAL, W. E. The effects of varying the interval from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchrony of estrus in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 81, p. 1562-1567, 2003.

VASCONCELOS, J. L. M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H. N.; GUENTHER, J. N.; WILTBANK, M. C. Reduction in size of the ovulatory follicle reduce subsequent luteal size and pregnancy rate. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 224, 1998. Supplementum 1.

VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Effect of day of of estrous cycle on synchronization of ovulation using GnRH. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 89, 1997. (Abstr.). Supplementum 1.

VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; ROSA, G. J. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, p. 1067-1078, 1999.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, p. 2501-2509, 2000.

WANDIJI, S. A.; PELLETIER, G.; SIRARDI, M. A. Ontogeny and celular localization of I¹²⁵ - labeled insulin – like growth factor – I, I¹²⁵ labeled follicle- stimulating hormone and I¹²⁵ - labeled human chorionic gonadotropin binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. **Biology of Reproduction**, v. 47, p. 814-822, 1992.

WASSARMAN, P. M. The mammalian ovum. In : KNOBIL, E.; NEIL, D. (Eds). **The Physiology of Reproduction.**, 1989, p. 69-102.

WEBEL, S. K. Control of the estrous cycle in cattle with a progesterone releasing intravaginal device. In: 8th INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION AND IA. Krakow, Wroclawska Drukarnia Naukowa – 12-16 July, 1976, Krakow. **Proceeding**...v. 3, p. 521-523.

WHITTAKER, P. R.; COLAZO, M. G.; MARTÍNEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. New or used CIDR-B devices and estradiol benzoate, with or without progesterone, for fixed-time AI in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 391, 2002. (Abstr.).

WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G. L. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus* - influenced cattle managed on the Texas gulf coast. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1173-1178, 2002.

WILTBANK, J. N.; STURGES, J. C.; WIDEMAN, D.; LEFEVER, D. G.; FAULKNER, L. C. Control of oestrus and ovulation using subcutaneous implant and oestrogen in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 33, p. 600-606, 1971.

WILTBANK, M. C.; KASSON, C. W. Synchronization of oestrus in cattle with an oral progestacional agent and an oestrogen. **Journal of Animal Science**, v. 27, p. 113-116, 1968.

XU, Z.; GARVERICK, H. A.; SMITH, G. W.; SMITH, M. F.; HAMILTON., S. A.; YOUNGQUIST, R. S. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v. 53, p. 951-957, 1995.