GABRIEL ARMOND CREPALDI

Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF

São Paulo

2009

GABRIEL ARMOND CREPALDI

Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF

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

Departamento:
Reprodução Animal

Área de concentração:
Reprodução Animal

Orientador:
Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli

São Paulo
2009

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2174
FMVZ

Crepaldi, Gabriel Armond

Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF / Gabriel Armond Crepaldi. – São Paulo : G. A. Crepaldi, 2009.
87 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2009.

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

Orientador: Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli.

1. IATF. 2. Indutor de ovulação. 3. Dispositivo intravaginal de progesterona.
4. Estradiol. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Momento da ovulação e taxa de prenhez de vacas Nelore (*Bos indicus*) sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona (novo ou previamente usado por 8 dias) tratadas com benzoato ou cypionato de estradiol como indutor de ovulação em protocolos de IATF.", protocolado sob o nº 1613/2009, utilizando 3200 (três mil e duzentos) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 18 de março de 2009.

We certify that the Research "Timing of ovulation and pregnancy rate in Nelore cows (*Bos indicus*) synchronized with intravaginal progesterone device (new or previously used for 8 days) treated with estradiol cypionate or benzoate to induce ovulation on FTAI protocols", protocol number 1613/2009, utilizing 3200 (three thousand two hundred) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Pietro Sampaio Baruselli, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 03/18/09.

São Paulo, 20 de março de 2009

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: CREPALDI, Gabriel Armond

Título: Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Assinatura: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Assinatura: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Assinatura: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

À Deus

Aos meus pais, **Victor Crepaldi Filho e Marta Spósito Armond Crepaldi**, pelo apoio incondicional a mim oferecido e por sempre exigirem que eu tentasse o máximo,

Aos meus irmãos, **Bruno Armond Crepaldi e Beatriz Armond Crepaldi**, por me estimularem a evoluir sempre,

À minha futura esposa, **Erica Taciana dos Santos**, pelo amor, paciência, compreensão e companheirismo durante esses anos,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação é o resultado do trabalho em conjunto e da colaboração de muitos amigos. Agradeço a todos que de alguma forma me ajudaram a concluir mais esta etapa em minha vida.

A toda minha família

Sempre apoiando e fazendo o possível para que eu concluísse essa etapa.

Ao Prof. Dr. **Pietro Sampaio Baruselli**, pela orientação neste trabalho, pelo exemplo de dedicação e comprometimento profissional, pela confiança em mim depositada, pelo respeito, pelos conselhos que com certeza me tornaram um profissional e uma pessoa melhor e principalmente pela amizade que nasceu e se solidificou nesse período. Sinto-me honrado por ter convivido este tempo com alguém de tamanha integridade pessoal e profissional, a quem tanto admiro.

Aos Profs. Drs. **Ciro Moraes de Barros e José Luiz Moraes de Vasconcelos**, por aceitarem o convite para participar da minha defesa e auxiliarem na conclusão desse projeto.

Aos grandes amigos **Zé Nélcio**, o qual tive oportunidade de conhecer neste período e com quem tive a oportunidade de desenvolver muitos experimentos, pela ajuda na

estatística, pelas partidas de futebol, apesar dele ser meio ruim, pelas festas e churrascos e por colaborar com o meu crescimento pessoal e profissional, **Alê**, pela ajuda incondicional, pelo apoio na realização dos experimentos e pelos momentos de descontração que ela sempre proporciona onde está. **Lindsay** que apesar de tentar se mudar para Pirassununga sempre será uma pietrinha, no auxílio durante este período, **Henderson e Robertinha** por organizarem o nosso laboratório, **Manoel Gaúcho**, pelos conselhos, **Márcio Ferraz, Ana Paula Mantovani, Claudiney Martins, Alexandre Souza, Torres, Jacomini, Kedson, Everton Reis** por colaborarem na realização desse projeto.

Aos amigos **Márcio de Oliveira Marques, Mário Ribeiro Junior e Rubens Cesar Pinto da Silva**,

Pela confiança em mim depositada, pelos estágios a mim oferecidos, pela colaboração no desenvolvimento de alguns experimentos, por ajudarem no meu crescimento profissional e pela grande amizade de sempre.

Aos amigos **Renato Giroto e João Paulo Dinardi do Pinho**

Por colaborarem na execução dos experimentos.

Ao amigo **Marcílio Nichi**,

Por ser o MANO de todas as horas, sempre preocupado com o bem das outras pessoas e pela ajuda incondicional oferecida.

Aos professores do VRA - USP **José Antônio Visintin, Mayra Elena Ortiz D'Avila Assumpção, Camila Vanucchi, Cláudio Alvarenga, Rubens Paes de Arruda, Ed Hoffman Madureira, Marcelo Guimarães, Valquiria Barnabe, Renato Barnabe e Annelise Traldi** pelos conselhos e pelo comprometimento com o ensino.

Aos colegas de Departamento **Zeca, Mariana Giasseti, Mariana Groke, Alê Nicácio, Camila Motta, Adriano, Febem, Paulão, Mariana Rodrigues, Patrícia, Eduardo, Weber, Renata, Liege, Cris, Fernanda, Gisele, Lili, Marina, Rodrigo, Everton, Flávia, Fabíola, Maza, Rodrigo, Aline, Dominique, Marcão, Cíntia, Marie, Priscila, Simprão e Fabian** por fazerem esse período parecer mais fácil do que realmente foi, pelo entretenimento e pelos churrascos.

Aos amigos da UEL **Batata, Pacato, Negão, Tutu, Giane, Cablas, Imbruia, Tigrelo, Ninigol, Basa, Lock, Gordo e Boitada** pelo período inesquecível da graduação

Às secretárias **Thais Soto, Harumi Shiraishi e Maria Alice**, pelo apoio, competência e amizade.

Aos funcionários do VRA, em especial **Dona Sílvia, Dona Áurea, Miguel, Maria Amélia, Ira, Belau, Luisinho e Jocimar** pela ajuda oferecida durante esse período.

Às Agropecuárias **DIMAFE, Estrela do Céu e São Pedro** por fornecerem os animais para este estudo.

À **Intervet/Schering-Plough, Pfizer, Ouro Fino, Tecnopec e Sexing Technologies** por fornecerem fármacos e sêmen tornando este período mais proveitoso.

RESUMO

CREPALDI, G. A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF.** [Efficacy of different ovulation inducer protocols and of different insemination intervals in beef cattle submitted to FTAI]. 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Objetivando reduzir o manejo em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), quatro experimentos foram realizados para avaliar a dinâmica folicular (Experimentos 1A e 1B) e a taxa de concepção (TC; Experimentos 2, 3 e 4) em vacas de corte tratadas com Cipionato (CE) ou Benzoato (BE) de estradiol como indutores da ovulação. No Experimento 1A, 51 animais receberam 2mg de BE e um dispositivo intravaginal de progesterona (DIB) novo no D0. No D8, os animais foram distribuídos entre quatro tratamentos (G-BE8, G-BE8,5, G-BE9 e G-CE8). Neste dia, o dispositivo foi removido, 0,530mg de Cloprostenol e 300UI de eCG foram administrados [manhã (M) no G-BE8, G-CE8 e G-BE9; tarde (T) no G-BE8,5]. As vacas do G-CE8 receberam 1,0mg de CE, as do G-BE8 e G-BE8,5 receberam 1,0mg de BE na retirada do DIB, e aquelas do G-BE9 receberam 1,0mg de BE 24 horas após. Análises ultra-sonográficas foram realizadas a cada 12 horas, da retirada do dispositivo até a ovulação. Foram utilizados os PROC GLM e GLIMMIX do SAS para análise estatística. Nos experimentos não foram observadas interações. Os resultados para G-BE8, G-CE8, G-BE8,5 e G-BE9 foram, respectivamente: diâmetro do folículo ovulatório (FO; $11,9 \pm 0,4^b$; $14,3 \pm 0,4^a$; $12,3 \pm 0,4^b$; e $13,3 \pm 0,6^{ab}$ mm; $P=0,01$), taxa de ovulação (TO; 100%; 90,0%; 100% e 91,7%; $P=0,99$) e intervalo retirada/ovulação (IRO; $58,3 \pm 2,1^b$; $72,0 \pm 2,0^a$; $57,6 \pm 1,3^b$ e $72,0 \pm 0,0^a$ h; $p<0,001$). No Experimento 1B (n=35), foi utilizado arranjo fatorial 3x3 [números de uso do DIB vs protocolos de indução da ovulação (PIO)]. No D0, os animais foram divididos em três grupos [DIB novo (DIBN), usado 8 (DIB8) e 16 dias (DIB16)]. Na retirada do DIB, os animais foram redistribuídos para os PIOs descritos no Experimento 1A (exceto G-BE8). Os resultados para G-CE8, G-BE8,5 e G-BE9 foram, respectivamente: FO ($14,0 \pm 0,6$; $13,8 \pm 0,6$ e $13,6 \pm 0,5$ mm; $P=0,88$), TO [81,8%; 83,3% e 83,3%; $P=0,93$] e IRO ($72,0 \pm 2,0^a$; $59,6 \pm 1,6^b$ e $73,2 \pm 1,2^a$ h; $p<0,01$). Os resultados para DIBN, DIB8 e DIB16 foram respectivamente: FO ($13,8 \pm 0,7$; $13,5 \pm 0,6$ e $13,9 \pm 0,5$ mm; $P=0,99$), TO [90,9%; 83,3% e 75,0%; $P=0,93$] e IRO ($74,4 \pm 1,6^a$; $72,0 \pm 0,0^{ab}$ e $68,0 \pm 2,0^b$ h; $P=0,02$). No

Experimento 2, 584 animais foram alocados em fatorial 3x2 [PIO (CE8, BE8,5 e BE9) e período de IATF (IATF-M ou IATF-T)], utilizando DIBN. Não houve diferença na TC: CE8 (57,5%), BE9 (59,9%) e BE8,5 (49,5%; $P=0,09$) e IATF M (56,6%) ou T (54,8%; $P=0,66$). No Experimento 3, 521 vacas foram divididas como no Experimento 2, porém com DIB8. Não houve diferença na TC nos PIOs: CE8 (47,3%), BE9 (53,3%) e BE8,5 (55,2%; $P=0,10$). Porém, houve diferença na TC para IATF-M (60,7%) ou IATF-T (48,3%; $P=0,01$). No Experimento 4, 1192 vacas foram distribuídas em fatorial 2x3x2 (DIBN e DIB8; BE8,5, BE9 e CE8; IATF-M e IATF-T). Não houve diferença na TC para: IATF-M (64,6%) ou IATF-T (59,5%; $P=0,06$) e PIOs; CE8 (65,8%), BE9 (61,8%) e BE8,5 (58,6%; $P=0,12$). Entretanto, houve diferença na TC ($P=0,04$) para uso do DIB; DIBN (65,0%) e DIB8 (59,4%). Esses resultados indicam que os PIOs apresentam mesma eficiência. Com DIB8, a IATF-T apresentou menor TC e o uso de DIB8 resultou em menor TC do que DIBN.

Palavras-chave: IATF. Indutor de ovulação. Dispositivo intravaginal de progesterona. Estradiol.

ABSTRACT

CREPALDI, G. A. **Efficacy of different ovulation inducer protocols and of different insemination intervals in beef cattle submitted to FTAI.** [Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF]. 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Aiming to minimize the number of handling during protocols for fixed-time artificial insemination (FTAI), four experiments were performed to evaluate the follicular dynamics (Experiments 1A and 1B) and conception rate (CR; Experiments 2, 3 e 4) in beef cows treated with estradiol cypionate (EC) or benzoate (EB) as ovulation inducers. In Experiment 1A, 51 animals received 2mg of EB and a new intravaginal progesterone device (DIB) on D0. On D8, animals were assigned into four treatments (G-EB8, G-EB8.5, G-EB9 and G-EC8). On the same day, the device was removed, 0.530mg of Cloprostenol and 300UI of eCG were administered [morning (AM) - G-EB8, G-EC8 and G-EB9; afternoon (PM) - G-EB8.5]. Cows of G-EC8 received 1.0mg of EC, while G-EB8 and G-EB8.5 received 1.0mg of EB at DIB removal, and those of G-EB9 received 1.0mg of EB 24h later. Ultrasonography was performed every 12h from DIB removal until ovulation. Statistical analysis was performed using PROC GLM and PROC GLIMMIX (SAS). No interactions were observed between treatments. Results of G-EB8, G-EC8, G-EB8.5 and G-EB9 were, respectively: diameter of ovulatory follicle (OF; 11.9 ± 0.4^b ; 14.3 ± 0.4^a ; 12.3 ± 0.4^b ; and 13.3 ± 0.6^{ab} mm; $P=0.01$), ovulation rate (OR; 100%; 90.0%; 100% and 91.7%; $P=0.99$) and interval between device removal-ovulation (IRO; 58.3 ± 2.1^b ; 72.0 ± 2.0^a ; 57.6 ± 1.3^b and 72.0 ± 0.0^a h; $p<0.001$). Experiment 1B ($n=35$) was performed using a factorial design 3×3 [DIB reutilization and ovulation inducer (OI)]. On D0, animals were allocated into three groups [new DIB (DIBN), used 8 (DIB8) and 16 days (DIB16)]. At DIB removal, animals were reallocated into the same OIs described on Experiment 1A, except by the G-EB8. The results of G-EC8, G-EB8.5 and G-EB9 were, respectively: OF (14.0 ± 0.6 ; 13.8 ± 0.6 and 13.6 ± 0.5 mm; $P=0.88$), OR [81.8%; 83.3% and 83.3%; $P=0.93$], and IRO (72.0 ± 2.0^a ; 59.6 ± 1.6^b and 73.2 ± 1.2^a h; $p<0.01$). Results of DIBN, DIB8 and DIB16 were, respectively: OF (13.8 ± 0.7 ; 13.5 ± 0.6 and 13.9 ± 0.5 mm; $P=0.99$), OR (90.9%; 83.3% and 75.0%; $P=0.93$), and IRO (74.4 ± 1.6^a ; 72.0 ± 0.0^{ab} and 68.0 ± 2.0^b h; $P=0.02$). At Experiment 2, 584 animals were allocated into a 3×2 factorial design [OI

(EC8, EB8.5 and EB9) and FTAI period (FTAI-AM or FTAI-PM)], being treated with DIBN. There was no difference on CR: EC8 (57.5%), EB9 (59.9%) and EB8.5 (49.5%; $P=0.09$) and IATF AM (56.6%) or PM (54.8%; $P=0.66$). On Experiment 3, 521 cows were allocated into the same experimental design of Experiment 2, however using DIB8. There was no difference on CR between different OIs: EC8 (47.3%), EB9 (53.3%) and EB8.5 (55.2%; $P=0.10$). However, there was difference on CR between FTAI-AM (60.7%) and FTAI-PM (48.3%; $P=0.01$). On Experiment 4, 1192 cows assigned into a 2x3x2 factorial design (DIBN and DIB8; EB8.5, EB9 and EC8; FTAI-AM and FTAI-PM). No differences were found on CR between FTAI-AM (64.6%) or FTAI-PM (59.5%; $P=0.06$), and OIs; EC8 (65.8%), EB9 (61.8%) and EB8.5 (58.6%; $P=0.12$). Cows treated with DIBN showed higher CR when compared to those treated with DIB8 (65.8 vs. 59.4%, respectively; $P=0.04$). These results indicate a similar efficiency using different OIs. Using DIB8, the FTAI-PM showed lower CR. Also the protocol using DIB8 resulted in lower CR than using DIBN.

Keywords: FTAI. Ovulation inductor. Intravaginal progesterone device. Estradiol.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1	INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL	19
2.2	DETECÇÃO DE ESTRO	19
2.3	ESTRADIOL E SEUS ÉSTERES NA INDUÇÃO DA OVULAÇÃO	21
2.4	EFEITO DA PROGESTERONA NO CRESCIMENTO FOLICULAR	23
2.5	SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO	24
2.5.1	Sincronização com PGF2α	24
2.5.2	Sincronização com GnRH/PGF2α/GnRH – Ovsynch	25
2.5.3	Sincronização com progesterona/ progestágenos associado ao estradiol	28
2.6	EFEITO DA ECG EM PROTOCOLOS DE IATF	29
2.7	INTERVALO ENTRE A INSEMINAÇÃO E A OVULAÇÃO	30
3.	EXPERIMENTO 1 – RESPOSTA FOLICULAR DE VACAS DE CORTE A DIFERENTES INDUTORES DE OVULAÇÃO EM PROTOCOLOS DE IATF COM DIB NOVO OU PREVIAMENTE UTILIZADO	31
3.1	OBJETIVOS	31
3.2	HIPÓTESES	31
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.3.1	Manejo dos animais	32
3.3.2	Delineamento experimental	32
3.3.3	Avaliações ultra-sonográficas	36
3.3.4	Análise estatística	36
3.4	RESULTADOS	36
3.4.1	Experimento 1A	36
3.4.2	Experimento 1B	38
3.5	DISCUSSÃO	42
3.6	CONCLUSÃO	46

4.	EXPERIMENTO 2 – EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES ÉSTERES DE ESTRADIOL NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF UTILIZANDO DIB NOVO	47
4.1	OBJETIVOS	47
4.2	HIPÓTESES	47
4.3	MATERIAL E MÉTODOS	47
4.3.1	Manejo dos animais	47
4.3.2	Delineamento experimental	48
4.3.3	Avaliação ultra-sonográficas	50
4.3.4	Análise estatística	50
4.4	RESULTADOS	50
4.5	DISCUSSÃO	52
4.6	CONCLUSÃO	53
5.	EXPERIMENTO 3 – EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES ÉSTERES DE ESTRADIOL NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF COM DIB PREVIAMENTE UTILIZADO POR 8 DIAS	55
5.1	OBJETIVOS	55
5.2	HIPÓTESES	55
5.3	MATERIAL E MÉTODOS	55
5.3.1	Manejo dos animais	55
5.3.2	Delineamento experimental	56
5.3.3	Avaliação ultra-sonográficas	58
5.3.4	Análise estatística	58
5.4	RESULTADOS	58
5.5	DISCUSSÃO	60
5.6	CONCLUSÃO	62

6.	EXPERIMENTO 4 – EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES ÉSTERES DE ESTRADIOL NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF UTILIZANDO DIB NOVO OU PREVIAMENTE USADO POR 8 DIAS	63
6.1	OBJETIVOS	63
6.2	HIPÓTESES	63
6.3	MATERIAL E MÉTODOS	63
6.3.1	Manejo dos animais	63
6.3.2	Delineamento experimental	64
6.3.3	Avaliação ultra-sonográficas	66
6.3.4	Análise estatística	66
6.4	RESULTADOS	66
6.5	DISCUSSÃO	71
6.6	CONCLUSÃO	73
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	74
	REFERÊNCIAS	77

INTRODUÇÃO

O rebanho bovino brasileiro é composto por 199.752.016 animais (FAO, 2009), no qual predomina a subespécie *Bos taurus indicus* (80%; BARUSELLI et al., 2007). Esses animais estão, em sua maioria, localizados em áreas tropicais e subtropicais devido a sua adaptação às altas temperaturas, umidade e condições de manejo. Contudo, as fêmeas mantidas em regiões tropicais apresentam alta incidência de anestro pós-parto, o que diminui a taxa de serviço e aumenta o intervalo parto concepção, afetando negativamente o desempenho reprodutivo. Sendo assim, uma das alternativas para melhorar a eficiência reprodutiva, aumentar a taxa de serviço e promover melhoramento genético sem a necessidade de detecção de cio é a sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Além disso, a IATF tem o potencial de encurtar a estação de monta, produzir bezerros uniformes e simplificar o uso da inseminação artificial (IA).

O desenvolvimento de um protocolo de sincronização da ovulação de fácil aplicação que resulte em taxas de prenhez a IA maiores que 50% é um fator importante para introduzir o uso dessa ferramenta em fazendas comerciais de vacas de corte (JOHNSON; JONES, 2005). O tratamento consiste na inserção de um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) ou implante auricular de norgestomet concomitante à administração de 2mg de BE (D0), remoção do implante e administração de prostaglandina (PGF) no dia 7 ou 8 e 1mg de BE i.m. 24h após a retirada do implante. A associação entre o Benzoato de estradiol (BE) e a progesterona tem sido amplamente utilizada nos protocolos de sincronização da ovulação para IATF em vacas de leite e de corte (MACMILLAN et al., 1999; BARUSELLI et al., 2001; BÓ et al., 2002; BÓ; CUTAIA; TRÍBULO, 2002). Além disso, a administração de BE 24 horas após a retirada do dispositivo permite a realização da IA por um intervalo de 48 a 58 horas após a retirada do dispositivo sem afetar a taxa de concepção.

Adicionalmente, estudos foram realizados com o intuito de possibilitar a utilização do Cipionato de estradiol (CE) como indutor de ovulação no momento da retirada do dispositivo de progesterona/progestágeno visando minimizar o número de manejos (COLAZO et al., 2003; MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006), obtendo-se taxas de prenhez similares ao protocolo que emprega Benzoato de estradiol 24 horas após a retirada do

dispositivo (BE9; MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006). Os resultados são indicativos de que a utilização de CE promove a sincronização da ovulação aproximadamente 70 horas após a remoção do dispositivo, semelhantemente à administração de BE 24 horas após a retirada do dispositivo (REIS et al., 2004; MARTINS et al., 2005). Observou-se também que o protocolo que emprega CE no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona resultou em taxas de prenhez similares ao protocolo com BE (SALES et al., 2008). Entretanto, o resultado de alguns pesquisadores (CASTRO JUNIOR et al., 2008) utilizando implante auricular de norgestomet previamente utilizado por 9 dias e Cipionato de estradiol indicam redução na taxa de prenhez quando a IATF é realizada 54 horas após a remoção do dispositivo.

Ainda, pesquisas recentes foram conduzidas a fim de estudar a administração de BE no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P4. Observou-se que tal protocolo resultou em sincronização e boa taxa de ovulação. Entretanto, quando o BE foi administrado na retirada do dispositivo, a taxa de prenhez foi menor na IA realizada entre 54 a 58 horas após a remoção do dispositivo (AYRES et al., 2008). Desse modo, os autores sugerem que apesar da administração de Benzoato de estradiol no momento da retirada do dispositivo permitir a redução de um manejo no protocolo de IATF, o protocolo tradicional com BE 24 horas após a retirada do dispositivo permitiu a realização da IA durante um período maior sem afetar a taxa de concepção em contraste ao protocolo com BE na retirada do dispositivo que resultou em queda na taxa de concepção com IATF durante a tarde.

Tendo em vista esses aspectos, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a dinâmica folicular (Experimentos 1A e 1B) e a taxa de concepção (Experimentos 2, 3 e 4) de vacas de corte recém-paridas (30 a 60 dias pós-parto) submetidas à IATF com diferentes protocolos de indução da ovulação. Objetivou-se também, avaliar o efeito do período da inseminação (manhã ou tarde do D10) e o número de usos do dispositivo (DIB novo ou previamente usado por 8 dias).

2. REVISÃO DE LITERATURA

Nesta revisão serão abordados assuntos referentes à sincronização da ovulação para inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

2.1 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL

As técnicas de melhoramento genético, aliadas ao aumento da eficiência reprodutiva, possibilitam selecionar indivíduos com características zootécnicas de interesse comercial. A inseminação artificial (IA) foi a primeira biotecnologia da reprodução utilizada com o objetivo de melhorar os índices reprodutivos e a genética de rebanhos bovinos. Assim, a eficiente multiplicação de animais superiores por biotécnicas reprodutivas pode proporcionar maior retorno econômico à atividade pelo aumento da produtividade.

O desenvolvimento da IA teve início com melhorias no manejo dos machos e principalmente na manipulação do sêmen incluindo colheita, avaliação, preservação e inseminação. Para realizar inseminação artificial convencional é necessário que ocorra a detecção do estro dos animais. Contudo, as falhas na detecção de estro e o grau de anestro pós-parto do rebanho nacional prejudicam o uso dessa técnica por afetarem negativamente a eficiência reprodutiva (BARUSELLI et al., 2004a).

2.2 DETECÇÃO DE ESTRO

Em fêmeas bovinas, a detecção do estro e o controle da dinâmica folicular são aspectos importantes a serem considerados em programas reprodutivos. Vacas mantidas sob condições favoráveis têm o potencial de produzir um bezerro por ano (STAGG et al., 1995). Para alcançar o

intervalo entre partos de 12 meses, a fêmea deve conceber com 75-85 dias pós-parto. Entretanto, no período pós-parto recente, a ovulação do folículo dominante só ocorre quando há adequada exposição à frequência de pulsos de LH (1 pulso/hora) para o crescimento final e aumento da produção de estradiol, o qual eventualmente desencadeará o pico de LH e a ovulação (ROCHE et al., 1992; WILTBANK et al., 2002). Murphy et al. (1990) verificaram que somente 11% das vacas de corte lactantes ovularam o folículo dominante da primeira onda folicular que foi detectado 10,2 dias após o parto. Quando poucas vacas são observadas em cio ocorrem significativas perdas na eficiência reprodutiva do rebanho, e comprometimento do programa de IA.

Diferentes partes do mundo têm relatado baixas taxas de serviço em animais submetidos à IA, e isto se deve a falhas na detecção de estro e a alta incidência de anestro pós-parto. Em *Bos indicus*, essas taxas são ainda piores devido à grande expressão de cio noturnos e a sua curta duração (BARUSELLI et al., 2004a). Nesse sentido, um estudo foi conduzido para avaliar o momento da ocorrência do cio ao longo do dia, verificou-se que 53,8% dos cios começam durante a noite, e que 30,7% começam e terminam durante a noite (PINHEIRO et al., 1998). Ainda, alguns fatores climáticos como chuvas e ventos fortes, assim como a movimentação dos animais de um pasto ao outro e as vacas mantidas no curral suprimem o comportamento de monta e atividades relacionadas ao estro (revisado em GALINA et al., 1996). Também, o fator estresse (ambiental e manejo) afeta a amplitude e a frequência dos pulsos de GnRH e LH e provocam atraso no pico pré ovulatório de LH com o conseqüente decréscimo na expressão do cio e incidência de ovulação normal (DOBSON; SMITH, 2000). Como no Brasil as fêmeas bovinas em reprodução possuem prevalência de 80% de sangue zebu (*Bos indicus*) e são criadas, na sua grande maioria a pasto, ocorrem significativos comprometimentos na taxa de detecção de cio e na eficiência dos programas de inseminação artificial.

2.3 ESTRADIOL E SEUS ÉSTERES NA INDUÇÃO DA OVULAÇÃO

Os estrógenos são esteróides naturais constituídos por 18 átomos de carbono e têm como principais compostos o 17 β -estradiol, a estrona e o estriol produzidos principalmente no ovário, mas também na placenta e na adrenal. Os estrógenos estão distribuídos em todo o organismo, se acumulam no tecido adiposo, são metabolizados no fígado e eliminados principalmente pela urina. O estradiol tem funções na fisiologia reprodutiva como expressão de cio, características sexuais secundárias e liberação de GnRH e LH pelo hipotálamo e hipófise, respectivamente.

Atualmente, vários compostos sintéticos que possuem as mesmas atividades biológicas dos estrógenos naturais foram desenvolvidos e têm sido freqüentemente empregados em programas reprodutivos. O estradiol e seus ésteres são amplamente utilizados para promover o controle farmacológico do ciclo estral em fêmeas bovinas, uma vez que na ausência de progesterona, a administração de estrógeno pode estimular a liberação de GNRH/LH e causar a ovulação do folículo dominante (MOENTER et al., 1990). Assim, os estrógenos mais utilizados com esta finalidade são o 17 β -estradiol e os ésteres de estradiol, como o Benzoato de estradiol, Valerato de estradiol e Cipionato de estradiol. O 17 β -estradiol apresenta meia-vida menor que o BE, VE e CE. A meia-vida da molécula depende da sua polaridade. Esta, por sua vez, esta relacionada ao tamanho da molécula, simetria das ligações e presença de anéis aromáticos. O Cipionato de estradiol e outros tipos de estradiol, como o Benzoato de estradiol e o 17 β -estradiol, têm sido utilizados como substitutos ao tratamento com GNRH para induzir a ovulação sincronizada em protocolos para IATF sendo que, somente a molécula de 17 β -estradiol é biologicamente ativa. Os ésteres de estradiol (BE, VE e CE) precisam liberar o 17 β -estradiol da sua estrutura por meio da ação da enzima esterase, no fígado. Apesar dos tratamentos com estradiol serem pouco utilizados em certos países devido a algumas restrições legais, eles são bastante utilizados em países da América do Sul, como o Brasil e a Argentina, devido ao seu menor custo se comparado aos compostos análogos do GnRH.

Vynckier et al. (1990) verificaram que 16 a 66 horas antes da ovulação as concentrações plasmáticas de estradiol variaram entre 11 e 28 pg/ml. Larson et al. (1992) observaram que a

administração intravenosa de 3 mg de 17 β -estradiol promoveu concentrações plasmáticas de 50 pg/mL de estradiol 2 horas depois com o retorno às concentrações basais 6 horas após o tratamento. Ainda, Burke et al. (2000) verificaram que 1 mg de BE via intramuscular promove um rápido aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol, atingindo a concentração máxima de 12,6 pg/ml quatro horas após, permanecendo elevada (12 pg/ml) por 24 horas. Contudo, em estudos realizados com CE foi visto que este apresenta maior meia-vida quando comparado ao BE. Lopes (2000) verificou que 2mg de CE via intramuscular promoveram aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol (25 pg/ml) 12 horas após a aplicação e pico (33 pg/ml) 36 horas após a administração, permanecendo elevada por mais de 96 horas (15 pg/ml), sendo que o pico das concentrações de estradiol circulante depende do tipo de estrógeno administrado. Assim, as características farmacocinéticas específicas dos diferentes ésteres de estradiol devem ser consideradas na determinação das estratégias que objetivem a sincronização do estro.

Embora os ésteres de estradiol possam ser utilizados no início do protocolo hormonal para sincronizar a emergência da nova onda de crescimento folicular, sabe-se que, na ausência de progesterona, o 17 β -estradiol produzido pelo folículo dominante promove a liberação de GnRH pelo hipotálamo, estimula a liberação de LH pela hipófise e desencadeia a ovulação. Desse modo, alguns estudos foram realizados com o objetivo de avaliar a ação dos ésteres de estradiol como indutores indiretos da ovulação. Marques et al., (2003) avaliaram o efeito da administração de BE 24 horas após a retirada dos dispositivos de progesterona na sincronização e na taxa de ovulação em primíparas *Bos indicus* x *Bos taurus*. Eles verificaram que o tratamento aumentou a taxa de ovulação (80,8 vs. 54,2 %), sincronizando-a e antecipando eficientemente (69,4 h $\pm$ 2,0 vs. 86,3 h $\pm$ 4,8 após a remoção do dispositivo de P4). Ainda, quando o Benzoato de estradiol foi aplicado 24 a 30 horas após a remoção do dispositivo, o pico de LH ocorreu em média 21,5 horas após sua administração (LAMMOGLIA et al. 1998). Porém, quando o protocolo de indução da ovulação utilizado foi o emprego de Cipionato de estradiol no momento da retirada do dispositivo, o pico de LH ocorreu aproximadamente 45 horas após a remoção (SALES et al., 2007).

2.4 EFEITO DA PROGESTERONA NO CRESCIMENTO FOLICULAR

O fornecimento de progesterona exógena próximo ao momento da ovulação reduz a taxa de crescimento do folículo dominante (ADAMS et al., 1992). O mesmo efeito foi relatado por Ginther et al. (1971) em ovelhas, e também foi confirmado em estudo recente (PERES et al., 2009) que verificou que quanto maior a concentração de progesterona no momento da retirada do dispositivo intravaginal contendo 1,9 gramas de progesterona, menor o tamanho do folículo dominante. Os autores relataram ainda, que em vacas *Bos indicus* a probabilidade de prenhez é maior em programas de IATF quanto maior o diâmetro do folículo dominante. Desse modo, observou-se uma menor probabilidade de concepção quanto maior era a concentração plasmática de progesterona no momento da retirada do dispositivo de progesterona. Esses dados estão de acordo com os obtidos em novilhas por Dias et al. (2009) que observaram maiores taxas de concepção conforme aumentou o número de usos do dispositivo.

Rahe et al. (1980) relataram baixa pulsatilidade de LH quando as concentrações plasmáticas de progesterona estão elevadas (entre 5 e 8 ng/mL). Inversamente, a diminuição da concentração circulante de progesterona para valores subluteais aumenta a pulsatilidade de LH e favorece o crescimento do folículo dominante (SÁVIO et al., 1993), o que corrobora também com os dados obtidos por Stock e Fortune (1993). Estas observações dão suporte a outros tipos de estudos, nos quais se verificou que a elevada concentração de progesterona plasmática elevada diminuiu a capacidade ovulatória do folículo dominante (COLAZO et al., 2008). Dado similar foi relatado por Peres et al. (2009) que observaram uma tendência de redução na taxa de ovulação quanto maior a concentração de progesterona no momento da retirada do dispositivo. Carvalho et al. (2008) obtiveram menor taxa de ovulação quando a progesterona estava elevada. Os autores sugerem que tal fato pode estar associado à presença de folículos de menores diâmetros no momento da retirada do dispositivo.

2.5 SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO

Devido à dificuldade de detecção do estro, vários grupos de pesquisa iniciaram estudos com o objetivo de sincronizar o estro e a ovulação para o emprego de biotecnologias em dias pré-determinados.

2.5.1 Sincronização com $\text{PGF}_2\alpha$

A sincronização da ovulação para inseminação artificial é a tecnologia implementada para aumentar a lucratividade de fazendas comerciais pelo aumento da taxa de serviço e, conseqüentemente, minimiza os problemas de observação de cio. Neste sentido, a prostaglandina ($\text{PGF}_2\alpha$) foi um dos tratamentos mais comumente usados em fêmeas bovinas para a sincronização de estro (revisado em ODDE, 1990).

A $\text{PGF}_2\alpha$ causa regressão do corpo lúteo durante a fase do ciclo estral quando há responsividade a este fármaco. Tal responsividade inicia-se no 5º dia do ciclo estral, aumenta até o 12º dia e permanece em fase de platô até o 17º dia, quando se inicia a regressão espontânea pela prostaglandina endógena (ODDE, 1990; LARSON; BALL, 1992). A partir do momento em que ocorre a regressão do corpo lúteo, o próximo folículo dominante presente terá capacidade ovulatória (KASTELIC et al., 1990). Verificou-se que o intervalo entre a administração e a ovulação foi de três dias, quando o tratamento com prostaglandina foi realizado no 5º dia do ciclo estral, momento no qual o folículo dominante da primeira onda ainda está em fase de crescimento. No caso do tratamento iniciar-se no 12º dia do ciclo estral, o folículo dominante da segunda onda encontra-se no início da fase de crescimento e a ovulação ocorre 4,5 dias após a aplicação. Em bovinos tratados no 8º dia do ciclo estral, ocorre freqüentemente a ovulação do folículo dominante da primeira onda folicular quatro dias após a aplicação de prostaglandina. No entanto, ocasionalmente pode ocorrer a ovulação do segundo folículo dominante seis dias após o tratamento (KASTELIC; MAPLETOFT, 1998). Devido a esta variação, que ocorre entre o

tratamento e a ovulação, faz-se necessária a detecção de estro após o tratamento com prostaglandina visando identificar o momento apropriado para inseminação artificial. Além disso, o tratamento é efetivo apenas em fêmeas que tenham corpo lúteo na fase responsiva. Esse tratamento torna-se pouco eficiente em vaca Nelore com intervalo pós-parto de até 60 dias, pois esses animais apresentam apenas 14,4% (77/533) de ciclicidade (SALES, 2009; comunicação pessoal)¹.

Em vacas da raça Nelore (FIGUEIREDO et al., 1997; CASTILHO et al., 1997a) e Gir (GAMBINI et al., 1997) foi observada baixa manifestação de estro (< 50%) após tratamentos com PGF_{2α}, mesmo na presença de corpo lúteo funcional (PINHEIRO et al., 1998). Entretanto, outros trabalhos com zebuínos têm demonstrado elevadas taxas de manifestação de cio após a administração de prostaglandina (> 70%, BASILE; BENEDITO, 1980; LOPEZ-BARBELLA et al., 1981; OYEDIPE et al., 1986).

Teoricamente, duas aplicações de prostaglandina, com intervalos de 11 a 14 dias, induzem o estro em grande parte das fêmeas ciclando, enquanto fêmeas em anestro ou ciclando irregularmente não respondem ao tratamento. Portanto, tais programas nem sempre proporcionam alto grau de sincronização ou alta taxa de prenhez (CAVALIERI et al., 1997; BARROS, 2000). No entanto, mesmo após a aplicação de 2 doses de PGF_{2α}, tem sido observada grande variação na detecção do estro e na ovulação, tanto em *Bos taurus*, quanto em *Bos indicus*. Este dado indica que o tratamento com PGF_{2α} sincroniza eficientemente o momento da luteólise e não o estágio de desenvolvimento do folículo ovulatório. Assim, protocolos que procuram utilizar a inseminação em tempo fixo, apenas com a utilização de prostaglandina, não têm apresentado bons resultados.

2.5.2 Sincronização com GNRH/PGF_{2α}/GNRH - OVSYNCH

¹ Comunicação pessoal de José Nélio de Sousa Sales no ano de 2009.

Uma alternativa para sincronização da ovulação é a combinação de GnRH e PGF, também conhecido como Ovsynch, que pode ser usado em protocolos de IATF tanto em vacas de leite quanto de corte (TWAGIRAMUNGU et al., 1995; PURSLEY et al., 1997; THATCHER et al., 2001). Esse protocolo consiste na administração de GnRH seguida de PGF 7 dias após, uma segunda aplicação de GnRH 48 h após o tratamento com PGF, e a IATF 15 h mais tarde. O objetivo neste caso é diminuir a variação de tempo da ovulação após o tratamento com prostaglandina.

Estudou-se o emprego de análogos do GnRH, seguido da aplicação de prostaglandina depois de 7 dias. O tratamento com GnRH causa a ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento, desde que este esteja na fase de crescimento ou no início da fase estática. Desse modo, inicia-se uma nova onda de crescimento folicular 2 a 3 dias após o tratamento com GnRH (PURSLEY et al., 1995; TWAGIRAMUNGU et al., 1995; BODENSTEINER et al., 1996). Alguns trabalhos demonstraram que folículos com 9 a 10 mm de diâmetro em crescimento ovulam mesmo na presença de corpo lúteo funcional, com altos níveis de progesterona (WILTBANK, 1997). Entre 60 a 70% dos animais tratados são detectados em cio 4 dias após a aplicação de prostaglandina (TWAGIRAMUNGU et al., 1995). Trabalhos têm demonstrado que a sincronização do estro e, em particular, da ovulação pode ser consideravelmente aumentada com a segunda dose de GnRH 36-48 horas após a aplicação de prostaglandina. Esta aplicação de GnRH colabora na eficiência da inseminação em tempo fixo, realizada de 16 a 24 horas após a aplicação hormonal. Pursley et al. (1995) observaram que após a aplicação da primeira dose de GnRH ocorreu a ovulação e o início da nova onda de crescimento folicular que resultou na presença de um folículo dominante no dia da aplicação da prostaglandina depois de 7 dias. Com a luteólise provocada pela prostaglandina e com a segunda dose de GnRH, todos os animais tratados ovularam entre 24 e 32 horas após a segunda dose de GnRH. Estes dados são indicativos da grande eficiência na sincronização da ovulação (método “Ovsynch”) em bovinos. Vasconcelos (1998) observou variação da taxa de ovulação conforme a época do ciclo estral, encontrando menores taxas em animais que se encontravam entre os dias 1 e 4 (23%) e maiores taxas em animais que estavam entre os dias 5 e 9 (96%). No entanto, a taxa de ovulação após a segunda dose de GnRH (87%) não foi influenciada pela fase do ciclo estral, mas variou ($P < 0,01$) de acordo com a resposta à primeira aplicação de GnRH (92% se houve

ovulação e 79% se não houve ovulação). Foram observadas ovulações entre a aplicação de prostaglandina e a segunda dose de GnRH (6%). Os resultados do método “ovsynch” quanto à taxa de concepção à inseminação artificial apresentam variações entre 26 e 55% (PURSLEY et al., 1995; 1997b; VASCONCELOS, 1998).

Existem trabalhos que analisaram a resposta ao protocolo “ovsynch” em zebuínos (BARROS et al., 2000; BARUSELLI et al., 2000; FERNANDES et al., 2000). Barros et al. (2000), sincronizaram fêmeas zebuínas em estágio aleatório do ciclo estral, com um análogo do GnRH e sete dias mais tarde, com PGF_{2α}. Vinte e quatro horas após a administração de PGF_{2α}, todos os animais receberam nova dose de GnRH. Cerca de 20 a 24 horas após a segunda dose de GnRH as vacas foram inseminadas em tempo fixo, sem observação do cio (dia 09). Este protocolo foi testado tanto em vacas lactantes (60 a 90 dias pós-parto, n = 44) quanto não lactantes (n = 49). As taxas de prenhez após uma única IA com tempo fixo foram de 47,7% e 44,9%, para vacas lactantes e não lactantes, respectivamente. Seguindo com os estudos utilizando protocolos com GnRH e PGF, Barros et al. (2000) realizaram estudos em vacas zebuínas visando substituir o último tratamento com GnRH pelo Benzoato de estradiol. O protocolo hormonal foi semelhante ao anterior, porém a segunda dose de GnRH foi substituída por dose única de 1,0mg de Benzoato de estradiol, e cerca de 30 a 34 horas após os animais foram inseminados em tempo fixo, sem observação de cio (dia 9). Este protocolo foi testado em 53 vacas Nelore lactantes (60 a 90 dias pós-parto) que estavam ciclando (confirmado pela presença de corpo lúteo à palpação retal) e resultou em taxa de prenhez de 43,3%.

Contudo, as taxas de prenhez em vacas *B. indicus* submetidas à IATF após a sincronização com Ovsynch variam de 21 a 43% (BARROS et al., 1998; MCGOWAN, 1999; WILLIAMS et al., 2002) e em animais em anestro, essas taxas são menores (14,9%) comparadas às vacas ciclando (46,3%; FERNANDES et al., 2001). Uma possível razão para a resposta ineficiente é a pequena porcentagem de animais que ovulam o folículo dominante após a primeira administração de GnRH, o que resulta em baixa sincronização da ovulação após o segundo GnRH (VASCONCELOS, 1998; MARTÍNEZ et al., 1999). Quando os protocolos GnRH-PGF_{2α}-GnRH e GnRH-PGF_{2α}-BE foram testados em vacas em anestro as taxas de prenhez foram mais baixas: 14,9% em 67 vacas tratadas com o protocolo 1 e 19,1% em 68 vacas tratadas com o protocolo 2. Indicando que estes tratamentos não são efetivos em animais em anestro (BARROS et al., 2000).

2.5.3 Sincronização com progesterona/progestágenos associado ao estradiol

A ação da progesterona na sincronização do ciclo estral em bovinos tem sido relatada há décadas (LAMOND, 1964; GORDON, 1976). Os animais recebiam injeções diárias em doses variadas por períodos de até 20 dias. Estes tratamentos resultavam em altas taxas de sincronização do estro, no entanto apresentavam baixa fertilidade, além de sua pouca praticidade, decorrente das aplicações diárias do hormônio (MACMILLAN; PETERSON, 1993). Com o passar do tempo foram desenvolvidos outros métodos de administração de progesterona.

Os dispositivos intravaginais de progesterona e o Benzoato estradiol (BE) têm sido amplamente utilizado em programas de sincronização da ovulação para IATF tanto em vacas de corte quanto em vacas de leite (MACMILLAN; PETERSON, 1993; MACMILLAN; BURKE, 1996; BÓ et al., 2002; BÓ; CUTAIA; TRÍBULO, 2002). O tratamento consiste na administração de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P4 (Dia 0), retirada do dispositivo e administração de PGF i.m. no Dia 7 ou 8, e 1 mg de BE i.m. 24 horas mais tarde (MACMILLAN; BURKE, 1996). Em contraste com diversos relatos que recomendam a sincronização da ovulação com injeção de BE 24 h após a remoção do dispositivo (BÓ et al., 2002; MARTINEZ et al., 2002, 2005; BARUSELLI et al., 2004b) outros estudiosos demonstraram a possibilidade de utilizar o Cipionato de estradiol (CE) no momento da retirada da fonte de progesterona/progestágeno objetivando minimizar o número de manejos (; COLAZO et al., 2003; MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006) e obter taxas de prenhez similares ao BE (MARQUES et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006). Além disso, o Cipionato de estradiol semelhantemente ao BE promove a sincronização da ovulação aproximadamente 70 h após a remoção do dispositivo (REIS et al., 2004; MARTINS et al., 2005). Estudos iniciais indicavam que o melhor momento para se realizar a IATF era entre 52 a 56 horas após a remoção do dispositivo em vacas *B. indicus* (BARUSELLI et al., 2001). Em trabalhos com vacas Nelore (*Bos indicus*), pesquisas mostraram que é possível realizar a IATF por um intervalo maior (48 a 58 horas após a retirada do dispositivo) sem afetar as taxas de prenhez utilizando o protocolo que administra o BE 24 horas após a retirada do

dispositivo (AYRES et al., 2008; CASTRO JUNIOR., 2008) ou com o emprego de Cipionato de estradiol no momento da retirada (AYRES et al., 2006)

2.6 EFEITO DA ECG EM PROTOCOLOS DE IATF

A eCG é um fármaco de meia vida longa (até 3 dias), produzido nos cálices endometriais da égua prenhe (40 a 130 dias; MURPHY; MARTINUK, 1991) que se liga aos receptores de FSH e LH dos folículos e aos receptores de LH do corpo lúteo (STEWART; ALLEN, 1981). Em eqüinos, a eCG causa ovulação ou luteinização de folículos durante a gestação, com conseqüente aumento da progesterona circulante (revisado por MURPHY; MARTINUK, 1991).

Uma característica importante da molécula de eCG é a existência de grande quantidade de carboidratos (aproximadamente 45% de sua massa) principalmente a N-acetil neuramina (ou ácido siálico), primordialmente presente na subunidade β da molécula de eCG, o que proporciona uma grande meia vida a este composto químico (MURPHY; MARTINUK, 1991). Ainda, além do alto peso molecular e da presença de ácido siálico, a molécula de eCG é carregada negativamente, o que dificulta a sua filtração glomerular e aumenta ainda mais sua meia-vida. Devido a todos estes fatores, a meia-vida da eCG quando aplicado em bovinos é longa (revisado por SOUZA, 2008).

Diversos estudos foram realizados visando melhorar as taxas de prenhez em fêmeas bovinas pelo aumento nas concentrações plasmáticas de progesterona. O emprego da eCG no momento da retirada de implantes auriculares de norgestomet e de dispositivos de P4 aumentaram as taxas de concepção de vacas de corte (CAVALIERI et al., 1997; MARQUES et al., 2003; BARUSELLI et al., 2004b; SÁ FILHO et al., 2004). Ainda, em estudo realizado com 526 vacas de corte lactantes, a taxa de prenhez foi maior no grupo tratado com eCG (51,9%) comparado aos animais não tratados (38,8%; $P < 0,05$), e essa melhoria está associada ao aumento na taxa de prenhez de animais em anestro no início do tratamento (BÓ et al., 2003; 2004). Além disso, outros pesquisadores como Marques et al. (2003), Baruselli et al. (2004a,b) e Sá filho et al. (2004) observaram que o tratamento com eCG no momento da remoção do dispositivo não

interfere no intervalo até a ovulação, sendo este dado muito importante, pois uma diferença no intervalo ovulação-inseminação pode alterar as taxas de concepção (NEBEL et al., 1994).

Em estudo recente, Sales et al. (2009) avaliaram o efeito da eCG e do FSH na taxa de ovulação e de concepção de vacas de corte. A eCG foi eficiente em aumentar a taxa de concepção quando comparado ao grupo controle (sem tratamento) e também aumentou a taxa de ovulação e o crescimento diário dos folículos entre a retirada do dispositivo e a ovulação. Porém, o FSH não apresentou efeito semelhante quando comparado ao grupo controle. Outro efeito observado nesse estudo foi o aumento da taxa de concepção das vacas que ovularam ao fim do protocolo. Tal fato pode estar relacionado ao efeito luteotrófico da eCG contudo, a concentração plasmática de progesterona não foi mensurada nesse estudo.

2.7 INTERVALO ENTRE A INSEMINAÇÃO E A OVULAÇÃO

Em relação ao intervalo ovulação-inseminação, o melhor momento para realizar a IA depende da viabilidade do oócito e da sobrevivência dos espermatozoides no trato genital da fêmea (HUNTER, 1994). Foi verificado que para o oócito, o melhor período para a fertilização é entre 6 e 10 h após a ovulação (revisado por ayres et al., 2008). Adicionalmente, Dransfield et al. (1998) e Roelofs et al. (2005) demonstraram que a probabilidade de ocorrer concepção diminui à medida que a IA se aproxima do momento da ovulação. Entretanto, para maximizar o acesso dos espermatozoides ao oócito, a inseminação artificial deve ocorrer próximo ao momento da ovulação, porém não tão tarde de modo que o oócito envelheça esperando a chegada do espermatozoide (DALTON; SAACKE, 2007). Roelofs et al. (2005) relataram que a ovulação ocorre aproximadamente 30 horas após o início do cio. Dessa maneira, o melhor momento para se realizar a IATF seria entre 16 e 26 horas antes a ovulação. O momento ideal para obter grandes taxas de fertilização é em torno de 24 e 12 h antes da ovulação e 16-12 h para obter maior porcentagem de embriões de alta qualidade (89% de embriões recuperados; ROELOFS et al., 2006).

3. EXPERIMENTO 1 – RESPOSTA FOLICULAR DE VACAS DE CORTE A DIFERENTES INDUTORES DE OVULAÇÃO EM PROTOCOLOS DE IATF COM DIB NOVO OU PREVIAMENTE UTILIZADO

3.1 OBJETIVOS

Avaliar em vacas de corte sincronizadas para IATF:

- o momento e a taxa de ovulação, o diâmetro do folículo ovulatório e o diâmetro máximo do folículo dominante de vacas tratadas com diferentes indutores de ovulação: Benzoato de estradiol (0 e 24 horas após a retirada) e Cipionato de estradiol no momento da retirada do dispositivo de progesterona.
- o momento e a taxa de ovulação, o diâmetro do folículo ovulatório e o maior diâmetro do folículo dominante de vacas tratadas com DIB novo ou previamente utilizado por 8 ou 16 dias
- o atraso de 10 horas a remoção do dispositivo associado à administração de Benzoato de estradiol (BE8,5) visando induzir as ovulações no mesmo período do protocolo com Benzoato de estradiol 24 horas após a remoção (BE9).

3.2 HIPÓTESES

Os diferentes protocolos de indução da ovulação apresentam a mesma eficiência em induzir e sincronizar a ovulação.

O número de usos do DIB não interfere na taxa, na sincronização e no momento da ovulação.

O atraso de 10 horas na retirada do DIB, associado à administração de Benzoato de estradiol (BE8,5) induz a ovulação no mesmo período que no protocolo tradicional que emprega BE 24 horas após a retirada.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Manejo dos animais

O presente estudo foi dividido em dois experimentos: Experimento 1A (n = 51) e Experimento 1B (n = 35).

Ambos os experimentos foram conduzidos em uma fazenda comercial em Nova Andradina - MS, no Centro Oeste brasileiro em diferentes momentos. Multíparas Nelore (*Bos indicus*) paridas entre 30 e 60 dias, foram usadas nesse estudo. Todos os animais foram mantidos em pastejo (*Brachiaria brizantha*), suplementados com sal mineral e livre acesso à água.

3.3.2 Delineamento experimental

No Experimento 1A, todos os animais receberam 2 mg de BE (Gonadiol[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) e um dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona novo (DIB; DIB[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil), em dia aleatório do ciclo estral (Dia 0). No Dia 8, os animais foram homogeneamente alocados em um de quatro tratamentos (BE8, BE8,5, BE9 e CE8, descritos a seguir) de acordo com o escore de condição corporal (ECC) e status ovariano (presença ou ausência de CL e folículo maior ou menor que 8 mm). Neste mesmo dia (Dia 8), o dispositivo foi removido, 0,530mg de Cloprostenol sódico (Ciosin[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil) e 300UI de eCG (Folligon[®], Intervet/Schering-Plough, Brasil)

foram administrados em todos os animais (de manhã para os animais dos grupos BE8, CE8 e BE9 e a tarde para animais do grupo BE8,5). As vacas do Grupo CE8 (n=10) receberam 1,0mg de CE (ECP[®], Pfizer Saúde Animal, Brasil) e as vacas dos grupos BE8 e BE8,5 (n=15 por grupo) receberam 1,0mg de BE no momento da retirada do dispositivo. As vacas do Grupo BE9 (n=12) foram tratadas com 1,0mg de BE 24 horas após a retirada do dispositivo (Figura 1). No Experimento 1B, foi utilizado arranjo fatorial 3x3 (3 diferentes números de uso do DIB e 3 protocolos de indução da ovulação). No D0, os animais foram divididos em três grupos (DIB novo, previamente usado por 8 dias ou 16 dias) de acordo com o escore de condição corporal e o status ovariano. No momento da retirada do DIB, os animais de cada grupo foram redistribuídos para os diferentes protocolos de indução da ovulação conforme descrito para o Experimento 1A (Figura 2) com exceção do grupo BE8.

Figura 1 – Diagrama esquemático do Experimento 1A; D0: todos os grupos receberam 2mg de Benzoato de estradiol e um dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona; D8: retirada do dispositivo, administração de 300 UI de eCG e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (PGF) nas vacas dos grupos BE8, BE9 e CE8. O mesmo procedimento foi realizado no período da tarde para as vacas do grupo BE8,5. Nesse dia, as vacas do Grupo CE8 receberam 1mg de CE e as vacas dos grupos BE8 e BE8,5 receberam 1mg de BE no momento da retirada do dispositivo; D9: administração de 1mg de BE nas vacas do Grupo BE9. Foram realizadas análises ultra-sonográficas a cada 12 horas do D8 ao D12 ou até a ovulação

Figura 2 – Diagrama esquemático do Experimento 1B; D0: todos os grupos receberam 2mg de Benzoato de estradiol e um dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona (novo vs. previamente usado por 8 dias vs. previamente usado por 16 dias); D8: retirada do dispositivo, administração de 300 UI de eCG e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (PGF) nas vacas dos grupos BE9 e CE8. O mesmo procedimento foi realizado no período da tarde para as vacas do grupo BE8,5. Nesse dia, as vacas do Grupo CE8 receberam 1mg de CE e as vacas do grupo BE8,5 receberam 1mg de BE no momento da retirada do dispositivo; D9: administração de 1mg de BE nas vacas do Grupo BE9. Foram realizadas análises ultra-sonográficas a cada 12 horas do D8 ao D12 ou até a ovulação

3.3.3. Avaliações ultra-sonográficas

Avaliações ultra-sonográficas transretais (Chison 600VET, transdutor linear 5MHz, China) foram realizados a cada 12 horas a partir da retirada do dispositivo até a ovulação ou até 96 horas após a retirada do dispositivo (Figuras 1 e 2). A ovulação foi definida como o desaparecimento do folículo dominante identificado na avaliação anterior.

3.3.4 Análise estatística

A Análise estatística foi realizada utilizando o programa Statistical Analyses System for Windows (SAS, 2003). As variáveis: diâmetro do folículo ovulatório, diâmetro máximo do folículo dominante, intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação (intervalo retirada/ovulação) e intervalo entre a administração do indutor de ovulação e a ovulação (intervalo indutor/ovulação) foram analisadas utilizando o PROC GLM e as diferenças entre os tratamentos foram detectadas pelo teste de Duncan. A taxa de ovulação foi analisada usando o procedimento PROC Glimmix. Foram incluídas no modelo estatístico as variáveis independentes: escore de condição corporal e status ovariano. As variáveis que não apresentavam efeito ($p > 0,20$) foram retiradas do modelo. A comparação da dispersão do momento da ovulação foi realizada com o teste de Bartlett. Foi utilizado como nível de significância $P < 0,05$.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 Experimento 1A

Os animais dos grupos CE8 e BE9 apresentaram maior intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação ($72,0 \pm 2,0h^a$ e $72,0 \pm 0,0h^a$, respectivamente) do que o grupo BE8 ($58,3 \pm 2,1h^b$), e do grupo BE8,5 ($57,6 \pm 1,3h^b$; $P=0,001$). Além disso, as vacas do Grupo CE8 apresentaram maior diâmetro do folículo dominante ($14,5 \pm 0,5^a mm$; $P=0,01$) em relação às vacas dos grupos BE8 ($12,3 \pm 0,4^b mm$) e BE8,5 ($12,4 \pm 0,5^b mm$). Efeito semelhante foi verificado para os folículos ovulatórios (CE8 = $14,3 \pm 0,4^a mm$, BE8 = $11,9 \pm 0,4^b mm$ e BE8,5 = $12,3 \pm 0,4^b mm$ respectivamente, $P=0,01$). As vacas do Grupo BE9 não diferiram dos demais grupos (Tabela 1). Entretanto, não houve variação na dispersão das ovulações e na taxa de ovulação entre os grupos. (Tabela 1 e Gráfico 1). Observou-se também que os animais tratados com Benzoato de estradiol apresentaram menor intervalo entre o tratamento e a ovulação do que os animais tratados com Cipionato de estradiol. Ainda, o Benzoato de estradiol administrado 24 horas após a retirada do dispositivo apresentou menor intervalo do que o Benzoato aplicado no momento da retirada para a mesma variável (Tabela 1).

Tabela 1 - Taxa de ovulação, momento da ovulação, diâmetro máximo do folículo dominante (FD) e diâmetro do folículo ovulatório (FO) de vacas Nelore tratadas com diferentes protocolos de indução da ovulação - Nova Andradina, MS - 2007

	Protocolo				P
	BE8	BE8,5	BE9	CE8	
Número de Animais	14	15	12	10	
Taxa de ovulação (%)	100,0 (14/14)	100,0 (15/15)	91,7 (11/12)	90,0 (9/10)	0,99
Intervalo retirada/ovulação (h)	$58,3 \pm 2,1^b$	$57,6 \pm 1,3^b$	$72,0 \pm 0,0^a$	$72,0 \pm 2,0^a$	0,001
Intervalo indutor/ovulação (h)	$58,3 \pm 2,1^b$	$57,6 \pm 1,3^b$	$48,0 \pm 0,0^c$	$72,0 \pm 2,0^a$	0,001
Diâmetro máximo do FD (mm)	$12,3 \pm 0,4^b$	$12,4 \pm 0,5^b$	$13,5 \pm 0,6^{ab}$	$14,5 \pm 0,5^a$	0,01
Diâmetro do FO (mm)	$11,9 \pm 0,4^b$	$12,3 \pm 0,4^b$	$13,3 \pm 0,6^{ab}$	$14,3 \pm 0,4^a$	0,01

Gráfico 1 – Intervalo entre a retirada do dispositivo de progesterona e a ovulação em vacas Nelore lactantes tratadas com diferentes indutores de ovulação

3.4.2 Experimento 1B

Não houve interação entre o número de usos do dispositivo e o protocolo de indução da ovulação para as variáveis analisadas (taxa de ovulação – $P=1,00$; intervalo retirada/ovulação – $P=0,57$; intervalo indutor/ovulação – $P=0,56$; diâmetro máximo do folículo dominante – $P=0,81$; diâmetro do folículo ovulatório – $P=0,77$). Analisando o efeito principal indutor da ovulação, os animais dos grupos CE8 ($72,0 \pm 2,0h^a$) e BE9 ($73,2 \pm 1,2h^a$) apresentaram maior intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação do que o grupo BE8,5 ($59,6 \pm 1,6h^b$; $P=0,001$). Não houve diferença ($P=0,95$) para o diâmetro máximo do folículo dominante nos grupos CE8 ($14,2 \pm 0,6mm$), BE9 ($14,1 \pm 0,4mm$) e BE8,5 ($14,0 \pm 0,5mm$). Efeito semelhante foi verificado para os folículos ovulatórios (CE8 = $14,0 \pm 0,6mm$, BE9 = $13,6 \pm 0,5mm$ e BE8,5 = $13,8 \pm 0,6mm$; $P=0,88$). Ainda, não houve variação na dispersão das ovulações e na taxa de ovulação entre os grupos. (Tabela 2 e Gráfico 2). No entanto, observou-se que os animais tratados com Benzoato de

estradiol apresentaram menor intervalo entre o tratamento e a ovulação do que os animais tratados com Cipionato de estradiol. Ainda, o Benzoato de estradiol administrado 24 horas após a retirada do dispositivo apresentou menor intervalo do que o Benzoato aplicado no momento da retirada para a mesma variável (Tabela 2).

Tabela 2 - Taxa de ovulação, momento da ovulação, diâmetro máximo do folículo dominante (FD) e diâmetro do folículo ovulatório (FO) de vacas Nelore tratadas com diferentes protocolos de indução da ovulação - Nova Andradina-MS, 2008

	Protocolo			P
	BE8,5	BE9	CE8	
Número de Animais	12	12	11	
Taxa de ovulação (%)	83,3 (10/12)	83,3 (10/12)	81,8 (9/11)	0,93
Intervalo retirada/ovulação (h)	59,6±1,6 ^b	73,2±1,2 ^a	72,0±2,0 ^a	0,001
Intervalo indutor/ovulação (h)	59,6±1,6 ^b	49,2±1,2 ^c	72,0±2,0 ^a	0,001
Diâmetro máximo do FD (mm)	14,0±0,5	14,1±0,4	14,2±0,6	0,95
Diâmetro do FO (mm)	13,8±0,6	13,6±0,5	14,0±0,6	0,88

Gráfico 2 – Intervalo entre a retirada do dispositivo de progesterona e a ovulação em vacas Nelore lactantes tratadas com diferentes indutores de ovulação

Para a análise do momento da ovulação das vacas tratadas com dispositivos de progesterona de diferentes números de uso, foi considerado o intervalo, em horas, entre o implante do dispositivo (D0) e a ovulação, visto que os momentos de retirada do dispositivo de progesterona nos diferentes protocolos de indução da ovulação são distintos. Para facilitar a interpretação dos dados os mesmos estão sendo também apresentados como: 8 dias (duração do tratamento com dispositivos de progesterona no protocolo tradicional) + intervalo em horas após os 8 dias de permanência do dispositivo. Os animais dos grupos DIB novo (8 dias + $74,4 \pm 1,6h^a$) apresentaram maior intervalo entre o implante do dispositivo e a ovulação do que o grupo DIB previamente usado por 16 dias (8 dias + $68,0 \pm 2,0h^b$; $P=0,0153$). O grupo DIB previamente usado por 8 dias (8 dias + $72,0 \pm 0,0h^{ab}$) não diferiu dos demais tratamentos. Não houve diferença ($P=0,83$) para o diâmetro máximo do folículo dominante nos grupos novo ($14,2 \pm 0,6mm$), previamente utilizado por 8 dias ($14,0 \pm 0,4mm$) e 16 dias ($14,0 \pm 0,4mm$). Efeito semelhante foi verificado para os folículos ovulatórios (novo = $13,8 \pm 0,7mm$, previamente usado 8 dias = $13,8 \pm 0,5mm$ e previamente usado 16 dias = $13,9 \pm 0,5mm$; $P=0,99$). Ainda, não houve variação na dispersão das ovulações e na taxa de ovulação entre os grupos. (Tabela 3 e Gráfico 3).

Tabela 3 - Taxa de ovulação, momento da ovulação, diâmetro máximo do folículo dominante (FD) e diâmetro do folículo ovulatório (FO) de vacas Nelore tratadas com dispositivos intravaginais contendo 1 grama de progesterona de diferentes usos - Nova Andradina-MS, 2008

	Número de usos			P
	Novo	Usado 8d	Usado 16d	
Número de Animais	11	12	12	
Taxa de ovulação (%)	90,9 (10/11)	83,3 (10/12)	75,0 (9/12)	0,33
Intervalo implante(D0) /ovulação (h)	270,4±1,6h ^a (8d+74,4±1,6h ^a)	268,0±0,0h ^{ab} (8d+72,0±0,0h ^{ab})	264,0±2,0h ^b (8d+68,0±2,0h ^b)	0,015
Diâmetro máximo do FD (mm)	14,2±0,6	14,0±0,4	14,0±0,4	0,83
Diâmetro do FO (mm)	13,8±0,7	13,8±0,5	13,9±0,5	0,99

Gráfico 3 – Intervalo entre a retirada do dispositivo de progesterona e a ovulação em vacas Nelore lactantes tratadas com DIB reutilizado

3.5 DISCUSSÃO

A hipótese inicial do presente estudo de que os diferentes protocolos de indução da ovulação apresentam a mesma eficiência para induzir e sincronizar a ovulação foi confirmada. Não houve diferença na taxa e na dispersão das ovulações. Além disso, o atraso na retirada do DIB e na administração de BE (10 horas mais tarde; BE8,5) possibilitou que as ovulações ocorressem em período semelhante à dos grupos BE9 e CE8. Dessa forma, seria possível a realização da IATF em momento semelhante aos protocolos tradicionais. Contudo, a hipótese de que o número de usos do dispositivo não interfere no momento da ovulação não foi confirmada. Observou-se que quanto maior o número de usos do dispositivo, menor foi o intervalo entre a retirada e a ovulação. Porém, não houve diferença entre os grupos para o diâmetro do folículo ovulatório. Além disso, não houve interação entre o número de usos do dispositivo e o protocolo de indução da ovulação utilizado.

Em novilhas Nelore, a ovulação ocorre aproximadamente 30 horas após a administração de LH em folículos maiores que 8,5mm (GIMENES et al., 2008). Quando o Benzoato de estradiol é aplicado 24 a 30 horas após a remoção do dispositivo, o pico de LH ocorre em média 21,5 horas após sua administração (LAMMOGLIA et al. 1998). Esses dados foram confirmados em novilhas Nelore por Maio et al. (2006) que observaram pico de LH 22,4 horas após a administração i.m. de Benzoato de estradiol em novilhas ciclando. Quando a ovulação é induzida com Cipionato de estradiol no momento da retirada do dispositivo, o pico de LH ocorre aproximadamente 45 horas após a remoção (SALES et al., 2007). Assim, os intervalos entre a administração dos diferentes ésteres de estradiol nos protocolos BE9 e CE8 e o pico de LH e a ovulação estão de acordo com os intervalos encontrados no presente estudo (Tabelas 1 e 2). Tanto as vacas tratadas com BE9 como CE8 ovulam no mesmo momento (aproximadamente 72 horas após a retirada do dispositivo), proporcionando períodos semelhantes de inseminação, com a vantagem da redução de um tratamento para o protocolo que emprega o Cipionato de estradiol.

Os protocolos BE8 e BE8,5 que empregam Benzoato de estradiol no momento da retirada do dispositivo apresentaram eficiência semelhante tanto na indução como na sincronização da ovulação. Também, observou-se que não houve diferença na taxa e na dispersão das ovulações

entre os tratamentos com Benzoato de estradiol no momento da retirada ao observado nos Grupos BE9 e CE8 (Tabelas 1 e 2). Esse resultado corrobora com o apresentado por Ayres et al. (2008) que observaram o mesmo efeito comparando os Grupos BE8 e BE9.

Contudo, no presente estudo foi observado que o Benzoato de estradiol quando administrado no momento da retirada do dispositivo (BE8 e BE8,5) promove a ovulação aproximadamente 60 horas após sua administração. Quando aplicado 24 horas após a remoção (BE9), a ovulação ocorre aproximadamente 48 horas após. Outros trabalhos de pesquisa verificaram o mesmo efeito no intervalo entre a remoção do dispositivo e o estro (CAVALIERI et al., 1997). Quando o protocolo utilizado foi o BE8 o estro ocorreu 30 horas após o tratamento, e quando o protocolo foi o BE9 o estro ocorreu 43 horas após a remoção. Algumas hipóteses podem ser levantadas para discutir esse fato. 1- Fatores ligados ao “clearance” de progesterona após a retirada do dispositivo: a presença de elevadas concentrações circulantes de progesterona e estradiol podem bloquear o pico de LH até que sua concentração diminua (BÓ et al., 1995). Ainda, estudo recente mostra que as concentrações circulantes de progesterona afetam a liberação de LH seguidas de administração de GnRH em gado de corte (COLAZO et al., 2008). 2- o tamanho do folículo no momento do pico de LH: Gimenes et al. (2008) observaram que apesar de não haver diferença estatística, quanto menor o diâmetro do folículo no momento do tratamento com LH, maior o intervalo para a ovulação (7,0 a 8,4mm = 38,0 horas; 8,5 a 10,0mm = 31,5 horas; >10,0mm = 30,0 horas). 3- presença de receptores de LH no folículo dominante: ocorre um aumento nos receptores de LH no folículo conforme o folículo cresce e se aproxima do momento e do diâmetro ovulatório (revisado por Sartori et al., 2001). Essa diferença na quantidade de receptores poderia ocasionar alteração no intervalo entre a indução e a ovulação. 4- Pico endógeno de estradiol: Pode haver pico endógeno de estradiol antes da administração do Benzoato de estradiol o antecipando o pico endógeno de LH e as ovulações.

No presente estudo, as vacas que receberam os tratamentos BE8 e BE8,5 apresentaram menor diâmetro do folículo ovulatório em comparação às fêmeas do tratamento CE8 (Experimento 1A), o que poderia prejudicar a eficiência do protocolo, pois alguns pesquisadores indicaram que há diminuição na taxa de prenhez conforme a diminuição do diâmetro do folículo ovulatório (Vasconcelos et al., 2001; Sá Filho et al., 2008). Embora não tenha sido observada diferença significativa no diâmetro do folículo ovulatório no grupo B9 em relação aos grupos

BE8 e BE8,5, outros pesquisadores (REIS et al., 2004) avaliaram o diâmetro do folículo ovulatório conforme os diferentes momentos de administração do BE (0 e 24 h) após a retirada do dispositivo e verificaram que quando os animais receberam o tratamento com estrógeno no Dia 9 os folículos ovularam com diâmetros maiores em comparação aos animais que receberam o mesmo tratamento um dia antes (1.39 ± 0.05^a cm vs 1.23 ± 0.03^b cm, respectivamente; $P < 0.05$). Ayres et al. (2008) trabalhando com vacas Nelore (*B. indicus*) lactantes, relataram que as vacas tratadas com BE no Dia 9 tiveram aumento no diâmetro do folículo dominante, tendência de aumento no diâmetro do folículo ovulatório e maior intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação do que as vacas tratadas com Benzoato de estradiol no momento da retirada do dispositivo de progesterona (D8). Esses resultados não concordam com Cavalieri et al. (2002) que obtiveram resultado similar ao do presente estudo para o diâmetro do folículo ovulatório, não encontrando diferença quando as vacas receberam Benzoato de estradiol no momento da retirada do dispositivo (BE0) ou 24 horas após (BE24). Ainda, os resultados desses autores corroboram com o do presente estudo quanto ao momento da ovulação (56,8 horas pra BE0 e 74,4 horas para BE24). Adicionalmente, outros estudos de dinâmica folicular realizados em vaca Nelore observaram que tanto a administração de CE no dia da retirada do dispositivo intravaginal, quanto o tratamento com BE 24 h depois, foram eficazes em sincronizar a ovulação em torno de 70 h após a remoção do dispositivo de P4 (REIS et al., 2004; MARTINS et al., 2005). Esses resultados estão de acordo com o presente experimento, pois tanto o Grupo BE9 quanto o Grupo CE8 sincronizaram com a mesma eficiência a ovulação 72,0 h após a retirada do dispositivo (Tabela 1). Além disso, no presente estudo foi observado que o atraso de 10 horas na retirada do dispositivo intravaginal de progesterona associado à administração de BE (protocolo BE8,5) induziu as ovulações desse grupo em período semelhante às dos grupos BE9 e CE8, possibilitando a utilização desse protocolo de indução da ovulação com a IATF sendo realizada em momento semelhante aos protocolos que empregam CE8 e BE9.

Neste experimento, a eCG foi administrada no momento da retirada do dispositivo de progesterona. Diversos estudos relataram que o emprego da eCG no momento da retirada de implantes auriculares de norgestomet e de dispositivos de intravaginais de progesterona aumentam as taxas de ovulação e concepção em vacas de corte, quando os animais estão em anestro, com baixo escore de condição corporal e no período pós parto recente (CAVALIERI et

al., 1997; MARQUES et al., 2003; BARUSELLI et al., 2004b; SÁ FILHO et al., 2004). No entanto, Marques et al. (2003), Baruselli et al. (2004a,b) e Sá Filho et al. (2004) observaram que o tratamento com eCG no momento da remoção do dispositivo não interfere no intervalo até a ovulação. Essa informação é considerada relevante, pois uma alteração no intervalo entre a ovulação e a inseminação pode comprometer a taxa de concepção (NEBEL et al., 1994). Cavalieri et al. (1997) observaram que o eCG promove melhor sincronização da ovulação em vacas tratadas com implante de progestágeno e Valerato de estradiol. No entanto, esses dados não foram confirmados em estudo realizado em vacas Nelore por Sá Filho et al. (2004) que verificaram o mesmo intervalo entre a retirada do implante e a ovulação em animais tratados ou não com eCG.

A utilização de dispositivos previamente usados tem sido uma alternativa para viabilizar economicamente a IATF em larga escala para rebanhos comerciais. Os resultados de trabalhos científicos são indicativos de que os dispositivos contendo 1 grama de progesterona podem ser reutilizados por até 2 vezes sem afetar a eficiência do protocolo. Maio et al (2008) analisaram o perfil plasmático de progesterona em novilhas ovariectomizadas tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona reutilizados. Os autores observaram que dispositivos intravaginais contendo 1 grama de progesterona com diferentes usos (novos, previamente usados por 8 ou 16 dias) foram eficientes em manter a concentração plasmática de progesterona acima de 1ng/mL durante 8 dias. Sá Filho e Vasconcelos (2008) utilizando dispositivo intravaginal contendo 1,9 gramas de progesterona (CIDR) novos, previamente usados por 9, 18 ou 27 dias não observaram diferença na taxa de ovulação, na taxa de concepção e no diâmetro do folículo no D11, indicando que o CIDR pode ser utilizado por até quatro vezes. Santos et al. (2004) observaram que o CIDR foi eficiente para manter concentrações plasmáticas de progesterona acima de 1 ng/mL durante 25 dias, enquanto que o DIB foi eficiente por apenas 13 dias. Essa diminuição na concentração sérica de P4 observada com o uso do DIB poderia aumentar a pulsatilidade de LH, aumentando a taxa de crescimento folicular e antecipando a ovulação (CARVALHO et al., 2008). Esse resultado seria compatível com o observado no presente estudo que verificou antecipação na ovulação conforme o número de usos do DIB.

Outros estudos observaram que o número de usos não altera a taxa de ovulação e o diâmetro do folículo ovulatório. Apesar de não haver diferença estatística, foi observado menor

intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação quanto maior o número de usos [novo = 77,1 horas; previamente usado 8 dias = 73,3 horas e previamente usado por 16 dias = 71,8 horas; Sales et al. (2008) comunicação pessoal]². É possível que os dispositivos previamente utilizados estejam antecipando o momento da ovulação. Novos estudos devem ser realizados para comprovar esses achados.

3.6 CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados foi possível concluir que:

- não houve diferença na taxa e na dispersão das ovulações em resposta aos diferentes indutores de ovulação.
- o intervalo entre o tratamento com Benzoato de estradiol e a ovulação foi menor do que o intervalo entre o tratamento com Cipionato de estradiol e a ovulação.
- os animais tratados com Benzoato de estradiol no momento da retirada do dispositivo apresentaram menor diâmetro do folículo ovulatório do que os animais tratados com Cipionato de estradiol na remoção do DIB (Experimento 1A).
- o atraso de 10 horas na retirada do dispositivo associado à administração de Benzoato de estradiol possibilitou que as ovulações ocorressem no mesmo período do protocolo tradicional que emprega Benzoato de estradiol 24 horas após a remoção do dispositivo.
- não houve diferença na taxa e na dispersão das ovulações e no diâmetro do folículo conforme o número de usos do dispositivo intravaginal de progesterona (DIB).
- o intervalo entre a retirada do dispositivo de progesterona foi inferior nos animais sincronizados com DIB previamente usado por 16 dias.

² Comunicação pessoal de José Nélio de Sousa Sales no ano de 2008.

4. EXPERIMENTO 2 – EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES ÉSTERES DE ESTRADIOL NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF UTILIZANDO DIB NOVO.

4.1 OBJETIVOS

Avaliar a interação entre o protocolo de indução da ovulação (BE8,5, BE9 e CE8) e o período da IATF (manhã e tarde).

Avaliar a taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF utilizando DIB novo de acordo com:

- os diferentes ésteres de estradiol empregados como indutores de ovulação.
- o período da inseminação (D10 de manhã ou no período da tarde).

4.2 HIPÓTESE

Não há diferença na taxa de concepção quanto aos diferentes protocolos de indução da ovulação e períodos de inseminação (manhã e tarde) quando o dispositivo intravaginal de progesterona é novo.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Manejo dos animais

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial localizada em Lavínia – SP (Agropecuária Estrela do Céu), no sudeste do Brasil. Vaca de corte ($n = 600$) paridas (30 a 60 dias) foram utilizadas nesse experimento. Dos animais sincronizados, 16 (2,6%) perderam o dispositivo. Esses animais não foram utilizados na análise dos dados do experimento. Dessa maneira, 584 fêmeas foram utilizadas para análise da taxa de concepção nesse estudo. Todos os animais foram mantidos em pastejo (*Brachiaria brizantha*), suplementados com sal mineral e livre acesso à água.

4.3.2 Delineamento experimental

No momento da retirada do dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona (D8; DIB[®]; Intervet/Schering-Plough, Brasil), as vacas foram homogeneamente alocadas em um de três grupos experimentais (mencionados abaixo), baseado no ECC. No momento da IATF (D10) os animais de cada grupo foram redistribuídos para momento de inseminação (manhã ou tarde) caracterizando delineamento experimental em arranjo fatorial 3x2. Todos os animais foram inseminados pelo mesmo técnico. O sêmen utilizado no presente estudo foi analisado quanto à motilidade, vigor, turbilhonamento e características morfológicas. Todas as partidas de sêmen usadas continham mais de 10×10^6 espermatozóides móveis por palheta. Em cada experimento, todos os grupos experimentais receberam quantidades semelhantes de doses de cada partida visando evitar efeito de partidas e touros. O mesmo tratamento hormonal descrito no Experimento 1 foi utilizado, com exceção do Grupo BE8 [300 UI de eCG (Folligon[®]; Intervet/Schering-Plough, Brasil), 2mg de Benzoato de estradiol (Gonadiol[®]; Intervet/Schering-Plough, Brasil), 1mg de Cipionato de estradiol (ECP[®]; Pfizer Saúde Animal, Brasil) e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (Ciosin[®]; Intervet/Schering-Plough, Brasil)]. No Grupo BE8,5-IA38h ($n=97$) os animais receberam 1,0mg de BE no Dia 8 a tarde e IATF realizada 38h após a retirada do dispositivo. As vacas do Grupo CE8-IA48h ($n=95$) receberam 0,5mg de CE no Dia 8, o Grupo BE9-IA 48h ($n=98$) receberam 1,0mg de BE no Dia 9 e em ambos a IATF foi realizada 48h após a retirada do dispositivo. O mesmo tratamento do Grupo BE8,5-IA38h foi utilizado no Grupo

BE8,5-IA44h (n=97), porém a IATF foi feita 44h após a retirada do dispositivo. Do mesmo modo, os tratamentos dos Grupos CE8-IA48h e BE9-IA48h foram feitos no grupos CE8-IA54h (n=98) e BE9-IA54h (n=99), porém a IATF foi feita 54 h após a retirada do dispositivo intravaginal de P4 (Figura 3).

Figura 3 – Diagrama esquemático do Experimento; D0: todos os grupos receberam 2mg de Benzoato de estradiol e um dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona novo (sem nenhum uso); D8: retirada do dispositivo, administração de 300 UI de eCG e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (PGF) nas vacas dos grupos BE9 e CE8. O mesmo procedimento foi realizado no período da tarde para as vacas do grupo BE8,5. Nesse dia, as vacas dos grupos CE8 e BE8,5 receberam 1mg de CE ou 1mg de BE respectivamente no momento da retirada do dispositivo; D9: administração de 1mg de BE nas vacas do Grupo BE9; D10: Foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo as 07:00 para os grupos CE8-IA48h, BE9-IA48h e BE8,5-IA38h e as 13:00 para os grupos CE8-IA54h, BE9-IA54h e BE8,5-IA44h

4.3.3 Avaliação ultra-sonográfica

Foi realizada uma avaliação ultra-sonográfica (Chison 600VET, transdutor linear 5MHz, China) com a finalidade de diagnosticar as gestações provenientes da inseminação 30 dias após a IATF.

4.3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por regressão logística (PROC Glimmix) utilizando o programa Statistical Analyses System for Windows (SAS, 2003). Para avaliação da taxa de concepção, foram incluídas no modelo estatístico inicial as seguintes variáveis independentes: raça, escore de condição corporal, touro e partida de sêmen. As variáveis que não apresentavam efeito ($p > 0,20$) foram retiradas do modelo. Adotou-se como nível de significância $P < 0,05$.

4.4 RESULTADOS

Não houve interação ($P = 0,72$) entre os tratamentos e o período da IATF. Não houve diferença na taxa de concepção entre os grupos para os efeitos principais; tratamento - CE8 (57,5%; 118/193), BE9 (59,9%; 118/197) e BE8,5 (49,5%; 96/194; $P = 0,09$; Gráfico 4) e período da IATF de manhã (56,6%; 164/290) ou IATF no período da tarde (54,8%; 161/294; $P = 0,66$; Gráfico 5).

Gráfico 4 – Taxa de concepção de vacas de corte tratadas com diferentes protocolos de indução da ovulação com DIB novo (Efeito principal)

Gráfico 5 – Taxa de concepção de vacas de corte tratadas com DIB novo de acordo com o período da inseminação artificial (Efeito principal)

Ainda, para efeito ilustrativo, não houve diferença na taxa de concepção para os grupos experimentais testados: Grupo CE8-IA48h (57,9%; 55/95), CE8-IA54h (57,1%; 56/98), BE9-IA48h (58,2%; 57/98), BE9-IA54h (61,6%; 61/99), BE8,5-IA38h (53,6%; 52/97) e BE8,5-IA44h (45,4%; 44/97; $p>0,10$; Gráfico 6)

Gráfico 6 – Taxa de concepção de vacas de corte submetidas a diferentes protocolos de sincronização da ovulação utilizando dispositivo intravaginal de progesterona novo

4.5 DISCUSSÃO

A hipótese de que os diferentes protocolos de indução da ovulação apresentam a mesma eficiência independente dos distintos períodos da inseminação artificial foi confirmada. Não houve interação entre as variáveis analisadas. A hipótese de que os diferentes períodos da inseminação não interferem na taxa de prenhez quando o dispositivo de progesterona é novo também foi confirmada. Não houve diferença ($P=0,66$) na taxa de prenhez quando a IATF foi realizada no período da manhã (56,6%) ou da tarde (54,8%)

Nesse estudo, não foi observada diferença na taxa de concepção entre os diferentes protocolos de indução da ovulação analisados. Em taurinos, o Cipionato de estradiol foi previamente utilizado para sincronizar a ovulação de novilhas em protocolos para IATF utilizando dispositivo intravaginal de progesterona (COLAZO et al., 2003). Verificou-se nesse estudo, que tanto a administração de 0,5mg de CE no momento da retirada do dispositivo quanto o tratamento com BE 24 horas após resultaram na sincronização da ovulação e em taxas de prenhez semelhantes. Resultados semelhantes foram obtidos quando foi utilizado Cipionato de

estradiol no final de protocolos hormonais ou Benzoato de estradiol 24 horas após com dispositivos intravaginais de progesterona ou implantes de progestágenos em zebuínos, (BARUSELLI et al., 2003; SÁ FILHO et al., 2004; PENTEADO et al., 2005; AYRES et al., 2006; SALES et al., 2008). Recentemente em estudo que comparou Cipionato de estradiol no momento da retirada do dispositivo, Benzoato de estradiol 24 horas ou GnRH 48 horas após a remoção (MENEGETTI et al., 2009). Nesse estudo, não foi observada diferença na taxas de ovulação, concepção (prenhas das ovuladas) e prenhez (prenhas das tratadas). Ainda, Penteado et al. (2006) não observaram diferença na taxa de concepção de animais tratados com 1,0mg Benzoato ou Cipionato de estradiol quando a IATF foi realizada 54 horas após a retirada.

Ayres et al. (2008) relataram que quando a IATF é realizada muito próxima à ovulação (6 horas; intervalo obtido com protocolo de Benzoato de estradiol na retirada e inseminação 54 horas após) há redução na taxa de concepção (34,3%) quando comparada ao intervalo de 14 horas entre a inseminação e a ovulação (intervalo obtido com protocolo de Benzoato de estradiol na retirada e inseminação 48 horas após; 58,8%). Os resultados apresentados por esses pesquisadores concordam com o do presente estudo, sendo que as taxas de prenhez obtidas com intervalos entre a inseminação e ovulação de 16 e 22 horas para o grupo BE8,5 foram similares aos grupos BE9 e CE8. Esse dado mostra que o atraso de 10 horas na retirada do dispositivo associado ao tratamento com BE no momento da retirada foi eficiente em manter a taxa de concepção durante os períodos da manhã e da tarde por possibilitar que o intervalo entre a inseminação e a ovulação estivesse entre 12 e 22 horas. Assim, os resultados obtidos no presente estudo são indicativos de que os protocolos de indução da ovulação CE8 e BE8,5 podem ser empregados em programas de IATF.

4.6 CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados foi possível concluir que:

- não houve diferença na taxa de concepção em resposta aos diferentes indutores de ovulação utilizando DIB novo.

- não houve diferença na taxa de concepção em resposta nos diferentes períodos de inseminação artificial utilizando DIB novo.

- não houve interação entre os diferentes indutores de ovulação e o período da inseminação artificial utilizando DIB novo.

5. EXPERIMENTO 3 – EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES ÉSTERES DE ESTRADIOL NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF COM DIB PREVIAMENTE UTILIZADO POR 8 DIAS.

5.1 OBJETIVOS

Avaliar a interação entre o protocolo de indução da ovulação (BE8,5, BE9 e CE8) e o período da IATF (manhã e tarde).

Avaliar a taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF com DIB previamente utilizado por 8 dias de acordo com:

- os diferentes ésteres de estradiol como indutores da ovulação.
- o período da inseminação (D10 no período da manhã ou da tarde).

5.2 HIPÓTESE

Não há diferença na taxa de concepção quanto aos diferentes protocolos de indução da ovulação e períodos da inseminação (manhã e tarde) quando o dispositivo intravaginal de progesterona é previamente utilizado por 8 dias.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Manejo dos animais

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial localizada em São Félix do Araguaia – MT (Agropecuária DIMAFE), no Centro Oeste do Brasil. Vacas de corte ($n = 575$) paridas entre 30 e 60 dias foram utilizadas nesse experimento. Para cálculo da taxa de concepção ($n=521$) não foram considerados os animais que perderam o dispositivo ($n=27$; 4,7%) ou que não passaram em alguma das etapas do protocolo (retirada, IATF ou no diagnóstico de gestação; $n=27$). Todos os animais foram mantidos em pastejo (*Brachiaria brizantha*), suplementados com sal mineral e livre acesso à água.

5.3.2 Delineamento experimental

No dia da remoção do dispositivo intravaginal de progesterona (DIB; Intervet/Schering-Plough, Brasil), as vacas foram homogeneamente alocadas em um de três grupos experimentais, baseado no ECC. No período da IATF (D10) os animais de cada grupo foram redistribuídos para período da inseminação (manhã ou tarde) caracterizando delineamento experimental com grupos alocados em arranjo fatorial 3x2. Todos os animais foram inseminados pelo mesmo técnico. O mesmo delineamento experimental descrito no Experimento 2 e protocolo hormonal [300 UI de eCG (Folligon®; Intervet/Schering-Plough,Brasil), 2mg de Benzoato de estradiol (Gonadiol®; Intervet/Schering-Plough,Brasil), 1mg de Cipionato de estradiol (ECP®; Pfizer Saúde Animal, Brasil) e 0,530mg de Cloprostenol (Ciosin®; Intervet/Schering-Plough,Brasil)] foi utilizado [grupos BE8,5-IA38h ($n=72$), CE8-IA48h ($n = 75$), BE9-IA48h ($n = 72$), BE8,5-IA44h ($n=64$), CE8-IA54h ($n = 62$) e BE9-IA54h ($n = 79$)], porém o dispositivo intravaginal de P4 era previamente utilizado por 8 dias (Figura 4).

Figura 4 – Diagrama esquemático; D0: todos os grupos receberam 2mg de Benzoato de estradiol e um dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona usado (previamente usado por 8 dias); D8: retirada do dispositivo, administração de 300 UI de eCG e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (PGF) nas vacas dos grupos BE9 e CE8. O mesmo procedimento foi realizado no período da tarde para as vacas do grupo BE8,5. Nesse dia, as vacas dos grupos CE8 e BE8,5 receberam 1mg de CE ou 1mg de BE respectivamente no momento da retirada do dispositivo; D9: administração de 1mg de BE nas vacas do Grupo BE9; D10: Foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo as 07:00 para os grupos CE8-IA48h, BE9-IA48h e BE8,5-IA38h e as 13:00 para os grupos CE8-IA54h, BE9-IA54h e BE8,5-IA44h

5.3.3 Avaliação ultra-sonográficas

Foi realizada uma avaliação ultra-sonográfica (Chison 600VET, transdutor linear 5MHz, China) com a finalidade de diagnosticar as gestações provenientes da inseminação 30 dias após a IATF.

5.3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por regressão logística utilizando o programa Statistical Analyses System for Windows (SAS, 2003). Para avaliação da taxa de concepção, foram incluídas no modelo estatístico inicial as seguintes variáveis independentes: raça, escore de condição corporal, touro e partida de sêmen. As variáveis que não apresentavam efeito ($p > 0,20$) foram retiradas do modelo. Foi utilizado o procedimento PROC Glimmix. Adotou-se como nível de significância $P < 0,05$.

5.4 RESULTADOS

Não houve interação ($P = 0,47$) entre os tratamentos e o período da IATF. Não houve diferença na taxa de concepção entre os tratamentos CE8 (47,3%; 79/167), BE9 (53,3%; 96/180) e BE8,5 (55,2%; 96/174; $P = 0,10$; Gráfico 7). No entanto, a IATF realizada no período da manhã (60,7%; 113/219) apresentou maior taxa de concepção do que a IATF realizada no período da tarde (48,3%; 99/205; $P = 0,01$; Gráfico 8).

Gráfico 7 - Taxa de concepção de vacas de corte tratadas com diferentes protocolos de indução da ovulação com DIB previamente usado por 8 dias (Efeito principal)

Gráfico 8 – Taxa de concepção de vacas de corte tratadas com DIB previamente usado por 8 dias de acordo com o período da inseminação artificial (Efeito principal)

Ainda, para efeito ilustrativo, houve diferença na taxa de concepção para os grupos experimentais testados: Grupo CE8-IA48h (57,3%^a; 43/75), CE8-IA54h (35,5%^b; 22/62), BE9-

IA48h (61,1%^a; 44/72), BE9-IA54h (53,2%^a; 42/79), BE8,5-IA38h (63,8%^a; 44/69) e BE8,5-IA44h (54,7%^a; 35/64; $p>0,10$; Gráfico 9)

Gráfico 9 - Taxa de concepção de vacas de corte submetidas a diferentes protocolos de sincronização da ovulação utilizando dispositivo intravaginal de progesterona previamente usado por 8 dias.

5.5 DISCUSSÃO

A hipótese de que a utilização dos diferentes protocolos de indução da ovulação apresenta eficiência semelhante foi confirmada. Contudo, a hipótese de que o período da inseminação não interfere na taxa de prenhez quando o dispositivo de progesterona é previamente utilizado por 8 dias foi negada. Houve redução na taxa de prenhez quando a IATF foi realizada no período da tarde (manhã 60,7%; tarde 48,3%; $P=0,01$). Ainda, observou-se que a eficiência dos diferentes indutores de ovulação não depende do período da IATF quando o DIB é previamente usado por 8 dias também foi confirmada. Não houve interação entre as variáveis analisadas.

Conforme alguns autores (HUNTER, 1994; MAATJE et al., 1997; DRANSFIELD et al., 1998; ROELOFS et al., 2005; DALTON; SAACKE, 2007) o melhor momento para se realizar a IATF seria entre 16 e 26 horas antes a ovulação. Outros pesquisadores discutem que o momento ideal para obter satisfatórias taxas de fertilização seria em torno de 24 e 12 h antes da ovulação e que intervalos entre 16-12 h seriam os mais favoráveis para a qualidade embrionária (89% de embriões recuperados; ROELOFS et al., 2006).

Santos et al. (2004) relataram que o DIB foi eficiente em manter concentrações plasmáticas de progesterona acima de 1 ng/mL durante 13 dias. Pimentel (2006) avaliou a liberação de progesterona do DIB em fêmeas bovinas ovariectomizadas por 16 dias. O autor verificou diminuição gradual na concentração plasmática de progesterona: 2 horas após o implante do DIB = 9,82ng/mL, 8 dias após o implante = 2,44ng/mL e 16 dias após o implante = 1,56ng/mL. Essa diminuição na concentração sérica de P4 poderia aumentar a pulsatilidade de LH, aumentando a taxa de crescimento folicular e antecipando a ovulação (CARVALHO et al., 2008). No presente Experimento os animais foram tratados com DIB previamente utilizado por 8 dias e, conforme relatado no Experimento 1B, e ainda, de acordo com resultados obtidos por outros pesquisadores (SALES et al., 2009; dados não publicados) ocorre antecipação da ovulação conforme o número de usos do dispositivo (novo = 77,1 horas; previamente usado 8 dias = 73,3 horas e previamente usado por 16 dias = 71,8 horas). Esses achados poderiam explicar a menor taxa de prenhez no grupo inseminado no período tarde, uma vez que a IA pode ter sido realizada em momento desfavorável devido à proximidade com o momento da ovulação visto que o dispositivo intravaginal de progesterona é previamente utilizado. Castro Junior et al. (2008) encontraram menor taxa de prenhez em vacas sincronizadas com implantes auriculares contendo progestágeno previamente utilizados e Cipionato de estradiol como indutor de ovulação quando a inseminação foi realizada 54 horas após a remoção (38,5%; 35/91) quando comparado à IATF 48 horas (49,5%; 45/91). Ainda, Sá Filho (2009; comunicação pessoal)³ observou uma tendência para diminuição na taxa de concepção conforme o número de usos do dispositivo contendo 1,9 gramas de progesterona (CIDR) e inseminação 54 horas após a retirada [novo = 58,1% (79/136) vs. previamente usado 8 dias 51,2% (66/129) e previamente utilizado por 16 dias

³ Comunicação pessoal de Manoel Francisco de Sá Filho no ano de 2009.

46,7% (56/120); $P=0,07$]. No entanto, em outro experimento do mesmo autor não foi verificada diferença entre os diferentes usos do CIDR quando a IATF foi realizada 48 horas após a retirada [novo = 48,4% (77/159); previamente usado 8 dias 54,0% (68/126) e previamente utilizado por 16 dias 55,0% (72/131); $p>0,10$] (Sá Filho 2009; comunicação pessoal)⁴. Sendo assim, devido à redução na taxa de concepção verificada em alguns experimentos quando do emprego de dispositivos previamente utilizados, indica-se a IATF no período da manhã.

5.6 CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados foi possível concluir que:

- não houve diferença na taxa de concepção em resposta aos diferentes indutores de ovulação empregando DIB previamente utilizado por 8 dias.
- a realização da inseminação artificial no período da tarde proporcionou menor taxa de concepção do que quando realizada no período da manhã empregando DIB previamente utilizado por 8 dias.
- não houve interação entre os diferentes indutores de ovulação e o período da inseminação artificial empregando DIB previamente utilizado por 8 dias.

⁴ Comunicação pessoal de Manoel Francisco de Sá Filho no ano de 2009.

6. EXPERIMENTO 4 – EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM DIFERENTES ÉSTERES DE ESTRADIOL NA TAXA DE CONCEPÇÃO DE VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF UTILIZANDO DIB NOVO OU PREVIAMENTE UTILIZADO POR 8 DIAS.

6.1 OBJETIVOS

Avaliar a taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF de acordo com:

- o momento da administração de diferentes ésteres de estradiol.
- o período da inseminação (D10 no período da manhã ou da tarde).
- o número de usos do dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona (DIB novo ou previamente utilizado 8 dias).

6.2 HIPÓTESE

Não há diferença na taxa de concepção quanto aos diferentes protocolos de indução da ovulação, períodos de inseminação (manhã e tarde) e número de usos do DIB (novo ou previamente utilizado por 8 dias).

6.3 MATERIAL E MÉTODOS

6.3.1 Manejo dos animais

O experimento foi realizado em uma fazenda comercial localizada em São Félix do Araguaia – MT (Agropecuária DIMAFE), no Centro Oeste do Brasil, durante os meses de Janeiro a Março de 2009. Vacas de corte (n=1260) paridas entre 30 e 60 dias foram utilizadas nesse experimento. Para cálculo da taxa de concepção (n=1189) não foram considerados os animais que perderam o dispositivo (n=25; 1,9%) ou que não passaram em alguma das etapas do protocolo (retirada, IATF ou no diagnóstico de gestação; n=46). Todos os animais foram mantidos em pastejo (*Brachiaria brizantha*), suplementados com sal mineral e livre acesso à água.

6.3.2 Delineamento experimental

No dia do implante do dispositivo (D0), as vacas foram homogeneamente alocadas em um de dois grupos experimentais conforme o número de usos do dispositivo (DIB; Intervet/Schering-Plough, Brasil; novo ou previamente usado por 8 dias) baseado no ECC. No momento da retirada do dispositivo (D8) os animais de cada grupo foram redistribuídos de acordo com o protocolo de indução da ovulação (BE8,5, BE9 e CE8). No dia da inseminação (D10) os animais de cada grupo foram novamente redistribuídos para o momento da IA (manhã ou tarde) caracterizando delineamento experimental em arranjo fatorial 2x3x2 (Figura 5). No dia 0, os animais foram divididos de acordo com a raça (Nelore ou Cruzada) para dispositivos novos ou dispositivos previamente usados por 8 dias (DIB novo ou DIB usado). No dia 8, as vacas foram redivididas entre os tratamentos BE9, BE8,5 ou CE8 descritos previamente. Os tratamentos hormonais foram feitos conforme descrito nos experimentos anteriores [300 UI de eCG (Folligon®; Intervet/Schering-Plough, Brasil), 2mg de Benzoato de estradiol (Gonadiol®; Intervet/Schering-Plough, Brasil), 1mg de Cipionato de estradiol (ECP®; Pfizer Saúde Animal, Brasil) e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (Ciosin®; Intervet/Schering-Plough, Brasil)]. A divisão entre os grupos foi feita de maneira equilibrada e levou em consideração o ECC, o uso do dispositivo e a raça. No dia 10, foram realizadas as inseminações artificiais no período da manhã ou da tarde. Novamente os animais foram divididos de maneira equilibrada e foram levados em consideração o ECC, a raça, o uso do dispositivo e o tratamento. As inseminações foram realizadas por dois técnicos.

Figura 5 – Diagrama esquemático do Experimento 4; D0: todos os grupos receberam 2mg de Benzoato de estradiol e um dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona novo ou usado (previamente usado por 8 dias); D8: retirada do dispositivo, administração de 300 UI de eCG e 0,530mg de Cloprostenol Sódico (PGF) nas vacas dos grupos BE9 e CE8. O mesmo procedimento foi realizado no período da tarde para as vacas do grupo BE8,5. Nesse dia, as vacas dos grupos CE8 e BE8,5 receberam 1mg de CE ou 1mg de BE respectivamente no momento da retirada do dispositivo; D9: administração de 1mg de BE nas vacas do Grupo BE9; D10: Foi realizada a inseminação artificial em tempo fixo as 07:00 para os grupos CE8-IA48h, BE9-IA48h e BE8,5-IA38h e as 13:00 para os grupos CE8-IA54h, BE9-IA54h e BE8,5-IA44h

6.3.3 Avaliação ultra-sonográfica

Foi realizada uma avaliação ultra-sonográfica (Chison 600VET, transdutor linear 5MHz, China) com a finalidade de diagnosticar as gestações provenientes da inseminação 30 dias após a IATF.

6.3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por regressão logística utilizando o procedimento PROC Glimmix no programa Statistical Analyses System for Windows (SAS, 2003). Para avaliação da taxa de concepção foram incluídas no modelo estatístico inicial as variáveis independentes: raça, escore de condição corporal, partida de sêmen, touro e inseminador. As variáveis que não apresentaram efeito ($p > 0,20$) foram retiradas do modelo. Adotou-se como nível de significância $P < 0,05$.

6.4 RESULTADOS

Não houve interação entre os tratamentos, uso do dispositivo intravaginal de progesterona (novo ou previamente usado por 8 dias), e o período de IATF (Tabela 4). Houve diferença conforme o número de usos do dispositivo intravaginal de progesterona: novo (64,9% 382/588) ou previamente usado (59,5%; 359/604; $P = 0,04$; Gráfico 10). Contudo, não houve diferença na taxa de prenhez conforme o indutor de ovulação: CE8 (65,8%; 262/398), BE9 (61,8%; 244/395) e BE8,5 (58,6%; 232/296; $P = 0,12$; Gráfico 11) e o período da IATF: manhã (64,6%; 389/602) ou tarde (59,5%; 350/588; $P = 0,06$; Gráfico 12).

Tabela 4 - Valores de P para as interações do Experimento 4

Interação	Valor de P
Indutor x período da IATF	0,97
Indutor x número de usos do DIB	0,49
Número de usos do DIB x período da IATF	0,19
Indutor x número de usos do DIB x período da IATF	0,82

Gráfico 10 – Taxa de concepção de vacas de corte de acordo com o uso do dispositivo (novo ou previamente usado por 8 dias; efeito principal)

Gráfico 11 - Taxa de concepção de vacas de corte tratadas com diferentes protocolos de indução da ovulação (efeito principal)

Gráfico 12 – Taxa de concepção de vacas de corte de acordo com o período da inseminação artificial (efeito principal)

Por não haver interação entre as variáveis (Tabela 4), os resultados do presente experimento apresentado abaixo (Gráficos 13, 14, 15 e 16) são apenas para efeito ilustrativo. Foram analisadas em conjunto as variáveis indutor de ovulação e período da IATF e nenhuma diferença ($p>0,10$) na taxa de concepção foi observada: BE8,5-IA38h (61,2%; $n=209$), BE9-

IA48h (64,7%; n=190), CE8-IA48h (67,9%; n=203), BE8,5-IA44h (55,9%; n=187), BE9-IA54h (59,0%; n=205) e CE8-IA54h (63,6%; n=195; Gráfico 13).

Gráfico 13 - Taxa de concepção de vacas de corte submetidas a protocolos de sincronização da ovulação de acordo com o tratamento e o período da IATF. São Félix do Araguaia – MT

Também foram analisadas em conjunto as variáveis indutor de ovulação e o número de usos do dispositivo e do mesmo modo, não houve diferença ($p > 0,05$) na taxa de concepção entre os grupos: BE8,5-DIB novo (61,8%; n=191), BE9-DIB novo (66,3%; n=193), CE8-DIB novo (66,5%; n=203), BE8,5-DIB usado (55,6%; n=205), BE9-DIB usado (57,4%; n=202) e CE8-DIB usado (65,1%; n=195; Gráfico 14).

Gráfico 14 - Taxa de concepção de vacas de corte submetidas a protocolos de sincronização da ovulação de acordo com o tratamento e o uso do DIB

Ainda, foram analisados os dados de acordo com o período da IATF e o uso do DIB. Observou-se diferença ($P=0,03$) na taxa de concepção entre os grupos: IA de manhã-DIB novo (69,0%^a; n=297) e IA de tarde-DIB usado (58,4%^b; n=298). Os demais grupos não diferiram de nenhum tratamento; IA de tarde-DIB novo (60,7%^{ab}; n=290) e IA de manhã-DIB usado (60,3%^{ab}; n=305; Gráfico 15).

Gráfico 15 - Taxa de concepção de vacas de corte submetidas a protocolos de sincronização da ovulação de acordo com o período da IATF e o uso do DIB.

Não houve diferença ($p>0,10$) na taxa de concepção para os grupos experimentais testados: Grupos CE8-IA48h-DIB novo (71,0%; $n=100$), CE8-IA54h-DIB novo (61,8%; $n=102$), BE9-IA48h-DIB novo (70,6%; $n=92$), BE9-IA54h-DIB novo (62,4%; $n=101$), BE8,5-IA38h-DIB novo (65,7%; $n=105$), BE8,5-IA44h-DIB novo (57,0%; $n=86$), CE8-IA48h-DIB usado (65,0%; $n=103$), CE8-IA54h-DIB usado (65,2%; $n=92$), BE9-IA48h-DIB usado (59,2%; $n=98$), BE9-IA54h-DIB usado (55,8%; $n=104$), BE8,5-IA38h-DIB usado (56,7%; $n=104$) e BE8,5-IA44h-DIB usado (54,5%; $n=101$; Gráfico 16).

Gráfico 16 - Taxa de concepção de vacas de corte submetidas a protocolos de sincronização da ovulação de acordo com o tratamento, o período da IATF e o uso do DIB

6.5 DISCUSSÃO

As hipóteses de que os diferentes protocolos de indução da ovulação e períodos de inseminação apresentam a mesma eficiência foram confirmadas. Contudo, a hipótese de que o

número de usos do dispositivo não interfere na taxa de concepção de vacas de corte tratadas para IATF foi rejeitada. Houve redução na taxa de concepção quando o dispositivo intravaginal contendo 1 grama de progesterona era previamente usado por 8 dias (novo 65,0% vs. previamente usado por 8 dias 59,4%; $P=0,04$). Ainda, verificou-se que o protocolo de indução da ovulação não depende do número de usos do dispositivo e do período da inseminação artificial foi confirmada. Não houve interação entre as variáveis analisadas.

A quantidade de progesterona liberada pelo dispositivo intravaginal contendo 1,38 gramas de progesterona por 15 dias apresentou alta repetibilidade (MACMILLAN et al., 1991; MACMILLAN; PETERSON, 1993), uma vez que estudos observaram que a concentração plasmática de progesterona em vacas ovariectomizadas nos dias 14 e 15 foram 1,9 (MACMILLAN et al., 1991) e 2,3 ng/ml (PETERSON; HENDERSON, 1991), sugerindo que o dispositivo poderia ser utilizado em dois protocolos de sincronização de 7 dias. Já, em estudo de Santos et al. (2004) foi observado que em dispositivos contendo 1 grama de progesterona, as concentrações plasmáticas de progesterona diminuíram a valores inferiores de 1ng/mL 13 dias após a inserção do dispositivo. Esse dado pode explicar em parte o resultado do presente estudo que verificou menor taxa de prenhez de fêmeas que utilizaram dispositivo de P4 de 1 grama previamente usado por 8 dias. Tal fato pode ter antecipado a ovulação como é apresentado no Experimento 1 do presente estudo. A diminuição da concentração circulante de progesterona aumenta a pulsatilidade de LH, favorecendo o crescimento do folículo (SÁVIO et al., 1993), o que pode antecipar o pico de estradiol, de LH e conseqüentemente a ovulação. Contudo, os dados do presente estudo não concordam com experimento recente (MEDALHA et.al, 2009) no qual não foi verificada diferença na taxa de concepção de fêmeas bovinas sincronizadas para IATF com dispositivos intravaginais de 1 grama novos (56,7%; 174/307), previamente utilizados por 8 (55,2%; 196/355) ou 16 dias (51,2%; 170/332) e inseminação 48 horas após a retirada. Similarmente, Colazo et al. (2004) não observaram diferença nas taxas de prenhez de vacas de corte submetidas a protocolos para IATF com dispositivos de P4 novos ou previamente utilizados. Em outro estudo, Meneghetti et al. (2009) não observaram diferença na taxa de ovulação e taxa de concepção em vacas Nelore tratadas com dispositivo intravaginal de 1,9 grama novo, previamente usado por 9 ou 18 dias e IATF 48 horas após a retirada em dois diferentes experimentos. Entretanto, em estudo recente, Sá Filho et al. (2009; comunicação

pessoal)⁵ observaram redução na taxa de prenhez conforme o numero de usos do dispositivo intravaginal contendo 1,9 grama de progesterona (novo = 58,1%; previamente usado 8 dias = 51,2% e previamente usado 16 dias = 46,7%) dias quando a IATF foi realizada 54 horas após a retirada do dispositivo. Esses dados corroboram com o encontrado no presente estudo. Ainda, deve-se avaliar se a maneira na qual do dispositivo é lavado ou armazenado pode influenciar os resultados de protocolos de IATF quando o dispositivo foi previamente utilizado.

6.6 CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados foi possível concluir que:

- não houve diferença na taxa de concepção em resposta aos diferentes indutores de ovulação.
- não houve diferença na taxa de concepção conforme o período da inseminação artificial (manhã ou tarde).
- a realização do protocolo de sincronização da ovulação com DIB previamente usado por 8 dias proporcionou menor taxa de concepção do que quando realizada com DIB novo.
- não houve interação entre os diferentes indutores de ovulação, o número de usos do DIB e o período da inseminação artificial.

⁵ Comunicação pessoal de Manoel Francisco de Sá Filho no ano de 2009.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo foi desenvolvido visando possibilitar a utilização de protocolos de sincronização da ovulação com 3 manejos e promover uma maior flexibilidade do momento da inseminação artificial (manhã e tarde), com intuito de facilitar o emprego dos protocolos IATF. Outro objetivo foi avaliar a eficiência desses protocolos quando o dispositivo intravaginal de progesterona de 1 grama era novo ou previamente usado por 8 dias.

Quando o dispositivo intravaginal de progesterona é previamente usado por 8 dias, sugere-se que a inseminação seja realizada 48 horas após a retirada do dispositivo, uma vez que foi observada redução na taxa de prenhez quando a IATF foi realizada no período da tarde (Gráficos 8 e 15). Apesar de ter sido verificado redução na taxa de prenhez quando o dispositivo intravaginal de progesterona era previamente usado, sua reutilização ainda é considerada uma alternativa para viabilizar economicamente o uso da IATF em rebanhos de corte. Além disso, outros experimentos não observaram o mesmo efeito. Sugere-se que novos estudos sejam realizados para confirmar essa hipótese. O protocolo de indução da ovulação BE8,5 mostrou-se uma alternativa eficaz para a IATF. As primeiras inseminações realizadas a campo (n=9.213) com o protocolo BE8,5 e IATF 38 horas após a retirada do dispositivo resultaram em 56,7% de taxa de prenhez (comunicação pessoal)⁶. Contudo, quando é analisado o manejo e a logística que envolve tais programas, em algumas situações o protocolo CE8 com IA 48 horas após a remoção do dispositivo pode ser considerado mais adequando, por exemplo, para grandes rebanhos. A utilização do protocolo CE8 possibilita que mais animais sejam inseminados por uma equipe de IATF no mesmo período de tempo. Algumas possibilidades de manejo com os diferentes protocolos de indução da ovulação estão apresentados nas figuras 6,7 e 8.

⁶ Comunicação pessoal de Juliano Kummer no ano de 2009.

		Dom.	Seg.	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
Semana 1	Manhã		Impl. 1 Curral 1	Impl. 3 Curral 1				
	Tarde		Impl. 2 Curral 1	Impl. 4 Curral 1				
Semana 2	Manhã			Ret. 1 Curral 1	Ret. 3 Curral 1	IATF 1 Curral 1	IATF 3 Curral 1	
	Tarde			Ret. 2 Curral 1	Ret. 4 Curral 1	IATF 2 Curral 1	IATF 4 Curral 1	

Figura 6 - Calendário esquemático para a realização de um protocolo de IATF utilizando o protocolo CE8 (800 vacas com lotes de 200 animais)

		Dom.	Seg.	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
Semana 1	Manhã		Impl. 1 Curral 1					
	Tarde		Impl. 2 Curral 1					
Semana 2	Manhã			Ret. 1 Curral 1	BE9 1 Curral 1	IATF 1 Curral 1		
	Tarde			Ret. 2 Curral 1	BE9 2 Curral 1	IATF 2 Curral 1		

Figura 7 - Calendário esquemático para a realização de um protocolo de IATF utilizando o protocolo BE9 (400 vacas com lotes de 200 animais)

		Dom.	Seg.	Terça	Quarta	Quinta	Sexta	Sábado
Semana 1	Manhã		Impl. 1 Curral 1	Impl. 2 Curral 1				
	Tarde							
Semana 2	Manhã					IATF 1 Curral 1	IATF 2 Curral 1	
	Tarde			Ret. 1 Curral 1	Ret. 2 Curral 1			

Figura 8 - Calendário esquemático para a realização de um protocolo de IATF utilizando o protocolo BE8,5 (400 vacas com lotes de 200 animais)

REFERÊNCIAS

ADAMS, G. P.; MATTERI, R. L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Reproduction**, v. 96, p. 627-40, 1992.

ALMQUIST, J. O.; GLANTZ, P. J.; SHAFFER, H. E. The effect of a combination of penicillin and streptomycin upon the livability and bacterial content of bovine semen. **Journal of Dairy Science**, v. 32 p. 183–190, 1949.

AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M.; MELLO, J. E.; DOMINGUEZ, J. H.; SOUZA, A. H.; VALENTIN, R.; SANTOS, I. C. C.; BARUSELLI, P. S. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v. 109, p. 77-87, 2008.

AYRES, H.; PENTEADO, L.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 410, 2006.

BARROS, C. M.; MOREIRA, M. B. P.; FERNANDES, P. Pharmacological manipulation of the oestrous cycle to improve artificial insemination or embryo transfer programs, **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 26, p. 179–198, 1998.

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, PGF2alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v. 53, p. 1121-1134, 2000.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M. O. Programas de inseminación artificial a tempo fijo en *Bos indicus*. Primeira parte. **Taurus**, v. 12, p. 15–25, 2001.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; MELLO, J. E.; CAMPOS FILHO, E. P. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* durante o período pós-parto. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 5., 2003, Fortaleza-CE. **Proceedings...** 2003. v. 1, p. 380.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T.; CARVALHO, J. B. P. eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 14., 2004, Porto Seguro. **Proceedings...** 2004b. v. 1, p. 117.

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

BARUSELLI, P. S.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MARQUES, M. O.; PENTEADO, L.; BÓ, G. A. Aplicação integrada de programas de controle da ovulação e manejo reprodutivo em bovinos de corte criados em condições extensivas. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 7., Córdoba. **Anais...** Córdoba: IRAC- Instituto de Reproducción Animal, 2007. v. 1, p. 55-79.

BASILE, J. R.; BENEDITO, V. A. Sincronização do ciclo estral em vacas Nelore com prostaglandina F_{2α} análoga (cloprostenol) por via intramuscular. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 3, p. 7-11, 1980.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 78-301, 2003.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, 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.; TRÍBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. **Taurus**, v. 14, p. 10–21, 2002.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; CHESTA, P.; MORENO, D. The use of eCG to increase pregnancy rates in postpartum beef cows following treatment with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate and fixed-time AI. **Reproduction Fertility and Development**, v. 16, p. 127, 2004. Abstract.

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

BODENSTEINER, K. J.; KOT, K.; WILTBANK, M. C.; GINTHER, O. J. Synchronization of emergence of follicular wave in cattle. **Theriogenology**, v. 45, p. 1115-1128, 1996.

BURKE, C. R.; DAY, M. L.; BUNT, C. R.; MACMILLAN, K. L. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 145-151, 2000.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos*

indicus, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-175, 2008.

CASTILHO, C.; DAYAN, A.; BARROS, C. M. Responsiveness of Nelore cows corpus luteum to PGF2 α , administered intramuscular or via submucosa vulvar. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 25, p. 205, 1997. Abstract.

CASTRO JÚNIOR, J. D.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; BARUSELLI, P. S. Efeito do tratamento com diferentes indutores da ovulação (cipionato e benzoato de estradiol) e do momento da inseminação artificial (48 e 54h após a retirada do implante de norgestomet) na taxa de prenhez de vacas nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36 p. 617, 2008

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 synchronised with a progesterone releasing intravaginal insert. **Australian Veterinary Journal**, v. 80, p. 217-223, 2002.

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

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

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; MAPLETOFT, R. J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v. 60, p. 855–865, 2003.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVAGA, Q. A.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Theriogenology**, v. 60, p. 855–865, 2004.

DALTON, J. C.; SAACKE, R. G. Parâmetros da Qualidade do Sêmen para Programas de Sincronização. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 11., 2007, Uberlândia. **Anais...** 2007. p. 154 – 161.

DAVIS, I. S.; BRATTON R. W.; FOOTE, R. H. Livability of bovine spermatozoa at 5, –25, and –85°C in tris-buffered and citratebuffered yolk-glycerol extenders. **Journal of Dairy Science**, v. 46, p. 333–336, 1963.

- DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F2a treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 378–385, 2009.
- DOBSON, H.; SMITH, R. F. What is stress, and how does it affects reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 60–61, p. 743–752, 2000.
- DRANSFIELD, M. B. G.; NEBEL, R. L.; PEARSON, R. E.; WARNICK, L. D. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1874–1882, 1998.
- FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (Bos indicus). **Theriogenology**, v. 47, p. 1489–505, 1997.
- FERNANDES, P.; TEIXERIA, A. B.; CROCCI, A. J.; BARROS, C. M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2_α and estradiol benzoate (EB). **Theriogenology**, v. 55, p. 1521–1532, 2001.
- FAO. Food and Agriculture Organization of United Nation. 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 15 julho 2009.
- FOOTE, R. H (Ed.). Tracing 50 years of research. In: Foote R. H. **Artificial Insemination to Cloning**. Ithaca, NY. Cornell University Resource Center, 1998, p.7.
- FOOTE, R. H.; BRATTON, E. R. W. The fertility of bovine semen in extenders containing sulfanilamide, penicillin, streptomycin, and polymyxin. **Journal of Dairy Science**, v. 33, p. 544–547, 1950.
- GALINA, C. S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 42, p. 465–470, 1996.
- GAMBINI, A. L. G.; MOREIRA, M. B. P.; CASTILHO, C.; BARROS, C. M. Follicular dynamics and synchronization of ovulation in Girolando cows. **Biology Reproduction**, v. 56, p. 195, 1997. Abstract.
- GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; MADUREIRA, E. H.; TRINCA, L. A.; SARTORELLI, E. S.; BARROS, C. M.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Follicle deviation and ovulatory capacity in Bos indicus heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 852–858, 2008.
- GINTHER, O. J. Influence of progesterone and number of corpora lutea on ovaries in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 32, p. 1987–1992, 1971.

GORDON, I. Controlled breeding in cattle. Part 1. Hormone in the regulation of reproduction, oestrus, control, and set time artificial insemination. **Animal Breeding**, v. 44, p. 265-275, 1976. Abstract.

HUNTER, R. H. F. Causes for failure of fertilization in domestic species. In: Zavy, M.T.; Geisert, R.D. (Eds.). **Embryonic Mortality in Domestic Species**. Boca Raton: CRC Press, Boca Raton, FL, VS, p. 1–22. 1994.

IRITANI, A. Problems of freezing spermatozoa of different species. In: INTERNATIONAL CONGRESS ANIMAL REPRODUCTION ARTIFICIAL INSEMINATION, 9., 1980, Espanha, **Proceedings...** 1980. p. 115–131.

JOHNSON, S. K.; JONES, R. Costs and comparisons of estrus synchronization systems. In: APPLIED REPRODUCTIVE STRATEGIES IN BEEF CATTLE, 2005. Texas. **Proceedings...**, 2005, p. 235–249.

KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of postaglandin F2a treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 23, p. 169-180, 1990.

LAMMOGLIA, M. A.; SHORT, R. E.; BELLOWS, S. E.; BELLOWS, R. A.; MACNEIL, M. D.; HAFS, H. D. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2 α . **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1662-1670, 1998.

LAMOND, D. R. Synchronization of ovarian cycles in sheep and cattle. **Animal Breeding**, v. 32, p. 269-285, 1964. Abstract.

LARSON, G. H.; WILLIAMS, W. F.; GROSS, T. S.; RUSSEK-COHEN, E.; MANSPEAKER, J. E. Systemic 13, 14-dihydro-15-keto-prostaglandin F2 α (PGFM) response to exogenous estradiol by luteal heifers on days 14 and 19 of the estrous cycle and on day 19 of pregnancy. **Animal Reproduction Science**, v. 25, p. 31-39, 1991.

LARSON, L. L.; BALL, P. J. H. Regulation of estrus cycle in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, v. 38, p. 255-267, 1992.

LOPES, F. L.; ARNOLD, D. R.; WILLIAMS, J.; PANCARCI, S. M.; THATCHER, M. J.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Use of estradiol cypionate for timed insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 216, 2000.

LOPEZ-BARBELLA, S.; MARTINEZ, L. A.; GAVALDON, L. L. Synchronization of estrous with norgestomet and prostaglandin F2 α in beef cattle. **Tropical Animal Production**, v. 6, p. 101-104, 1981.

MAATJE, K.; LOEFFLER, S. H.; ENGEL, B. Optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating onset of estrus with pedometers. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1098–1105, 1997.

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

MACMILLAN, K. L.; PETERSON, A. J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science**, v. 33, p. 1, 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 Reproduction Science**, v. 21, p. 25–40, 1991.

MAIO, J. R. G.; SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; BARUSELLI, P. S.; CARVALHO, M. M.; SENEDA, M. M. Perfil plasmático de progesterona e taxa de prenhez à IATF de fêmeas bovinas tratadas com Sincrogest (Dispositivo Intravaginal de Progesterona). **A Hora Veterinária**, v. 165, p. 41-44, 2008.

MAIO, J. R. G.; SANDOVAL, G. A. F.; SOUZA, E. D. F.; NOGUEIRA, G. P.; CIPRIANO, R. S.; PERECIN, F.; GARCIA, J. M. Concentração sérica de LH em vacas Nelore ciclando ou ovariectomizadas submetidas ao tratamento com 2,0mg de Benzoato de estradiol. **Acta Scientiae veterinariae**, v. 34, p. 360, 2006.

MARQUES, M. O.; AYRES, H.; REIS, E. L.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efeito do Cipionato e do Benzoato de estradiol na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinária**, v. 32, p. 222, 2004.

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: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 5., 2003a, Córdoba. **Anais...Córdoba: Instituto de Reproducción Animal de Córdoba**, 2003a. p. 392.

MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; SILVA, R. C. P.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Increased pregnancy rates in *Bos taurus*×*Bos indicus* embryo recipients with treatments to increase plasma progesterone concentration. **Theriogenology**, v. 59, p. 369, 2003b.

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 Reproduction Science**, v. 57, p. 23–33, 1999.

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; COOK, R. B.; OLSON, W. O.; MAPLETOFT, R. J. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 1049–1059, 2002.

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; BÓ, G. A.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. J. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin releasing and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37–52, 2005.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com Cipionato ou Benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 285, 2005.

MEDALHA, A. G.; SÁ FILHO, M. F.; FERREIRA, R. M.; PENTEADO, L.; REZENDE, C. R.; NASSER, L. F. T.; CREPALDI, G. A.; SALES, J. N. S.; SOUZA, M. I. L.; BARUSELLI, P. S. Efeito do número de utilizações do dispositivo intravaginal de progesterona (DIB) na IATF de vacas Nelore (*Bos indicus*). In: XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2009. Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte. p. 502-502, 2009.

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; LAMB, G. C.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v. 72, p. 179–189, 2009.

MCGOWAN, M. R. Sincronización de celos y programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado *Bos indicus* y cruce *Bos indicus*. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 3., 1999, Córdoba. **Anais...** Córdoba: Instituto de Reproducción Animal de Córdoba, 1999. p. 71-82.

MOENTER, S. M.; CARATY, A.; KARSCH, F. J. The estradiol-induce surge of gonadotropin-releasing hormone in the ewe. **Endocrinology**, v. 127, p. 1375-1384, 1990.

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

MURPHY, M. G.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckled cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 90, p. 523–533, 1990.

NEBEL, R. L.; WALKER, W. L.; MCGILLIARD, M. L.; ALLEN, C. H.; HECKMAN, G. S. Timing of artificial insemination of dairy cows: fixed time once daily versus morning and afternoon. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 3185–3191, 1994.

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

OYEDIPE, E. O.; VOH, A. A.; MARIRE, B. N. Plasma progesterone concentrations during the oestrus cycle and following fertile and non-fertile inseminations of zebu heifers. **The British Veterinary Journal**, v. 142, p. 41-46, 1986.

PENTEADO, L.; AYRES, H.; TORRES JUNIOR, J. R. S.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, p. 401, 2006.

PENTEADO, L.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Variação na taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com dispositivo intravaginal de progesterona associado ao Benzoato ou ao Cipionato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 260, 2005.

PERES, R. F. G.; CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v. 72, p. 681-9, 2009.

PETERSON, A. J.; HENDERSON, H. V. Plasma progesterone concentrations in ovariectomised dairy cows treated with a CIDR-B breeding device. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 43, p. 308, 1991. Supplement.

PHILLIPS, P. H.; LARDY, H. A. A yolk-buffer pabulum for the preservation of bull semen. **Journal of Dairy Science**, v. 23, p. 399-404, 1940.

PIMENTEL, J. R. V. Emprego de matriz polimérica biodegradável em dispositivos vaginais para liberação sustentada de progesterona em fêmeas bovinas: 2006. Dissertação 97p. (Mestrado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Pirassununga, 2006.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; VALLE, E. R. do.; ENCARNÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂α or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.

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

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 synchronized 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.

REIS, E. L.; GIMENES, L. U.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P. S. Efeitos do Cipionato e do Benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 236, 2004.

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

ROELOFS, J. B.; GRAAT, E. A. M.; MULLAART, E.; SOEDE, N. M.; VOSKAMP-HARKEMA, V.; KEMP, B. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, p. 2173–2181, 2006.

ROELOFS, J. B.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; SOEDE, N. M.; KEMP, B. Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 63, p. 1366–1377, 2005.

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 ON ANIMAL REPRODUCTION, 1., 2004a, Porto Seguro. **Proceedings...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2004a. p. 127.

SÁ FILHO, M. F.; PENTEADO, L.; REZENDE, C. R. L.; NASSER, L. F. T.; CRESPILO, A. M.; SALES, J. N. S.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; CREPALDI, G. A.; BARUSELLI, P. S. Variáveis associadas à resposta ovariana e à fertilidade de vacas de corte submetidas à IATF. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 606, 2008.

SÁ FILHO, M. F.; PRESTES, R.; MEDALHA, A. G.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Diferentes estímulos ovulatórios na indução de ciclicidade de novilhas *Bos indicus*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 18º., 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: CBRA, 2009. p. 362-362.

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

SÁ FILHO, O. G.; VASCONCELOS, J. L. M. Emprego de dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) previamente utilizado por 27 dias em protocolo de sincronização da ovulação em vacas nelore pós-parto. **Acta Scientiae veterinariae**, v. 36, p. 615, 2008.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; CARVALHO, J. B. P.; GIROTTO, R. W.; MAIO, J. R. G.; RODRIGUES, M. P.; CARVALHO, C. A. B.; FERREIRA, R. M.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Momento da ovulação e taxa de concepção de vacas Nelore tratadas com diferentes fontes de cipionato ou de benzoato de estradiol para induzir a ovulação em protocolos de IATF. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 36, p. 486, 2008.

SALES, J. N. S.; CREPALDI, G. A.; MAIO, J. R. G.; SOUZA, E. F. D.; CARREIRO, S. S.; VERONEZ, D. G.; NOGUEIRA, G. P.; BARUSELLI, P. S. Perfil de liberação de LH após o tratamento com cipionato de estradiol em novilhas Nelore ovariectomizadas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1028, 2007.

SALISBURY, G. W.; FULLER, H. K.; WILLETT, E. L. Preservation of bovine spermatozoa in yolk-citrate diluent and field results from its use. **Journal of Dairy Science**, v. 24, p. 905–910, 1941.

SANTOS, R. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; PEREZ, G. C.; SÁ FILHO, O. G.; MACIEL, A. B. B. Concentração sérica de progesterona em novilhas cruzadas Nelore/Angus tratadas com diferentes dispositivos intravaginais de progesterona. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 217, 2004.

SARTORI, R.; FRICKE, P. M.; FERREIRA, J. C. P.; 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.

SAS. STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM. **Sas user's guide: statistics**. Version 9.1 SAS Ins. Cary: SAS, 2002-2003.

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, 1993.

SOUZA, A. H. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. 2008. 152 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

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

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

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

THATCHER, W. W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J. E. P.; MATTOS, R. C.; LOPEZ, F. L.; PANCARCI, S. M.; RISCO, C. A. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v. 55, p. 75–90, 2001.

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

VASCONCELOS, J. L. M. Avaliação do protocolo de sincronização de ovação “ovsynch” e de fatores relacionados à associação entre produção de leite e taxa de concepção. 1998. 128f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1998.

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

VYCKIER, L.; DEBACKEU, M.; DKRUF, A.; CORYN, M. Plasma estradiol-17 β concentration in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17 β benzoate and estradiol-17 β cypionate - a preliminary study. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 13, n. 1, p. 36-42, 1990.

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, M. C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. **Proceedings Annual Meeting of the Society for Theriogenology**, p. 83-97, 1997.

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