FERNANDO JOSÉ DELAI PARDO

**Emprego de um novo dispositivo intravaginal para
liberação sustentada de progesterona em programas de
TETF em receptoras de embrião (*Bos taurus taurus* x *Bos
taurus indicus*)**

São Paulo
2008

FERNANDO JOSÉ DELAI PARDO

**Emprego de um novo dispositivo intravaginal para
liberação sustentada de progesterona em programas de
TETF em receptoras de embrião (*Bos taurus taurus* x *Bos
taurus indicus*)**

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

Departamento:

Reprodução Animal

Área de concentração:

Reprodução Animal

Orientador:

Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira

São Paulo
2008

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.1989
FMVZ

Pardo, Fernando José Delai

Emprego de um novo dispositivo intravaginal para liberação sustentada de progesterona em programas de TETF em receptoras de embrião (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*) / Fernando José Delai Pardo. – São Paulo : F. J. D. Pardo, 2008.
98 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, 2008.

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

Orientador: Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira.

1. Crestar®. 2. Progestar®. 3. Sincronização receptora. 4. PHB. 5. TETF. I. Título.

ATESTADO COMISSÃO DE BIOÉTICA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Emprego de um novo dispositivo intravaginal para liberação sustentada de progesterona em programas de TETF em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*)", protocolado sob o nº1287/2008, utilizando 200 (duzentos) bovinos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira, 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 "ad referendum" da referida Comissão.

We certify that the Research "Use of a new vaginal device for sustained progesterone release in FET programs in Nelore cows (*Bos Taurus indicus*)", protocol number 1287/2008, utilizing 200 (two hundred) bovines, under the responsibility Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira, 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 "ad referendum" of the meeting.

São Paulo, 20 de março de 2008

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

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: PARDO, Fernando José Delai

Título: **Emprego de um novo dispositivo intravaginal para liberação sustentada de progesterona em programas de TETF em receptoras de embrião (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*)**

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____
Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação aos meus pais Francisco José do Amaral Pardo e Sonia Maria Delai Pardo, e ao meu orientador Prof. Ed Hoffmann Madureira por todo o incentivo e ajuda para a realização dessa dissertação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Francisco José do Amaral Pardo e Sonia Maria Delai Pardo, por terem me gerado e criado como sou, e por sempre me ajudar e incentivar nos meus caminhos. À minha irmã, Fabiana e meu cunhado Marcio, meu irmão Flávio agora também colega de profissão, por me ajudarem a crescer e à minha namorada Beatriz Fioravante por estar comigo e me ajudar e incentivar durante todo tempo. Ao meu tio Alberto José Delai colega de profissão e amigo. À minha vó Aurora, e aos meus avôs que me deixaram sabedoria e saudades.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira pela orientação, conselhos e ensinamentos nesta etapa de minha vida.

Aos Professores Dr. Rubens Paes de Arruda, Dr. Mário Binelli, e Dra. Anneliese de Souza Traldi, pela amizade e ensinamentos. Rubão obrigado pelas aulinhas de futebol e Kiky, sei que nem sempre eram broncas.

À Universidade de São Paulo (USP), à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), ao Departamento de Reprodução Animal (VRA), pela oportunidade e aprendizagem e à CAPES pelo apoio financeiro e acadêmico.

Aos demais Professores do VRA aqui representados pelo professor Dr. José Antônio Visintin, Dr. Pietro Baruselli, Dra. Mayra Assumpção e Dra. Camila pela confiança e ajuda.

À Harumi, secretária da Pós-graduação do VRA pela ajuda e conselhos importantes, e por também ter sido minha guia em São Paulo, obrigado.

À Deise e Claudia, secretárias da pós-graduação, pela ajuda e dedicação.

À Isabel Barbosa que esteve como secretária do VRA de Pirassununga, pela ajuda e conversas.

Aos colegas pós-graduandos Fernando Braga, José Rodrigo Pimentel, Patrícia Miguez, Luiz Gustavo Rossa, Alexandre Almeida, Raquel Fernandes, Octavio Fabian Bao, Filipe Fedozzi, André Furugem de Andrade, Simone Martins, Juliana Nascimento, Fabiane Zaffalon, Felipe (Foca), Flávio Rocha Alves, Fabiana Bressan, Lindsay Gimenes, Karen Perez, Silas e André, André Granito e os demais que já defenderam ou de outros departamentos, pela amizade, incentivo, colaboração e convívio durante todos estes anos. Raquel muitas e muitas conversas e obrigado pela estatística, Zé (véio) obrigado e de nada... André e Simone valeu pelas bóias dos finais de semana, Braga valeu carinha e Paraguaio, “para o que...?”.

À Carla Celeguine, colega de pós e futura professora do departamento.

Aos funcionários do Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal (CBRA) do VRA campus de Pirassununga-SP, Márcio, José Maria, João, dona Edna e Creusa, muito obrigado por toda ajuda oferecida e conversas durante todo este tempo, foi bom trabalhar com vocês, obrigado.

Às empresas que me ajudaram no experimento, Embryo sys[®] de propriedade do Dr Julio Barbosa, médico veterinário a quem também agradeço por toda ajuda durante o experimento. À Invitro[®] e à Bioembyo[®], pela eficiência com os embriões e às Fazendas e aos funcionários que me ajudaram no experimento.

À Innovari Biotecnologia e Saúde Animal LTDA, pela doação dos medicamentos para o experimento.

Ao Departamento de Engenharia de Materiais (DEMA), da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Augusto Marcondes Agnelli e à PHB Industrial S. A. Pela confecção dos dispositivos e pelos trabalhos realizados juntos.

Aos meus ex - professores e coordenadores por me darem uma boa formação acadêmica e colaborarem com minha formação profissional. Em especial à minha orientadora de monografia Dra. Maria Inês Lenz Souza e ao Prof. Dr. Antônio Luiz Scalzo, além do Dr. André Philadelfo, Dr. Jorge Costa, Dr. Edmundo de Luca e Dr. Alexandre Garcia, que aqui representam os demais ex - professores.

Aos meus colegas de faculdade por me ajudarem durante toda minha vida acadêmica e por atravessar todas as barreiras e dificuldades. Marcos Kunio Miyazawa, Luiz Humberto Alduine Borges, Eber Rogério de Assis, Caroline M. Gonçalves, Mariane Vieira do Nascimento, Cíntia Gisele Momesso, Roberto Y. Araki Jr, etc...

Aos meus amigos César Fresqui e Maira Fresqui, Edeson e Lívia, Vitor Delai, Bruno Ferragine, Diógenes Rodrigues e Jorge Malully de Carvalho por estarem sempre comigo. César e Maira obrigado pela hospitalidade em São Paulo.

À todas as pessoas que me emprestaram seus computadores quando o meu me abandonava, a Estelinha, a Raquel, ao Braga, a Jake, o Simpão etc... obrigado.

A todos acima por me agüentar por todo esse período, meus sinceros agradecimentos e obrigado.

“Se vi mais longe que outros, é porque estava apoiado nos ombros de gigantes”
(Sir Isaac Newton).

EPIGRAFE

*“Os que sêem sabem muito,
mas os que observam sabem
muito mais”.
(Alexandre Dumas)*

*“O problema não é inventar.
É ser inventado hora após
hora e nunca ficar pronta
nossa edição convincente”.
(Drummond)*

RESUMO

PARDO, F. J. D. **Emprego de um novo dispositivo intravaginal para liberação sustentada de progesterona em programas de TETF em receptoras de embrião (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*)**. [Use of a new intravaginal device for releasing progesterone-based ETFT program in embryo recipients (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*)]. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

Dentre os inúmeros fatores para o sucesso dos programas de TE, as receptoras merecem grande destaque por serem fator determinante no sucesso desta biotecnologia. Atualmente, os produtos de liberação de progesterona disponíveis no mercado brasileiro são importados e confeccionados a base de nylon e silicone. O silicone é uma matriz biocompatível, mas não biodegradável, contrariamente aos novos dispositivos que utilizam biopolímeros obtidos a partir da fermentação bacteriana da cana-de-açúcar. O presente experimento tem como objetivo estudar a eficiência do novo dispositivo intravaginal de liberação sustentada de progesterona no programa de TETF, em novilhas e vacas cruzadas, pela avaliação das taxas de aproveitamento, concepção e de prenhez. O experimento foi realizado em parceria com a empresa de Embryo-sys[®], a qual foi responsável por realizar a sincronização das receptoras, assim como das inovulações. As sincronizações e as inovulações foram realizadas em três propriedades nos municípios de Paranapanema-SP, Itapetininga-SP e Ouro Fino-MG. Todos os animais foram submetidos a rigoroso manejo sanitário e ginecológico, e mantidos a pasto (*Brachiaria decumbens*) com suplementação mineral e água *ad libitum*. As receptoras (n = 205) foram agrupadas equitativamente quanto ao escore de condição corporal, condição ovariana, categoria animal e período pós-parto, em dois grupos: Grupo Controle - dispositivo auricular (Crestar[®], Intervet, Holanda) contendo 3mg de norgestomet (n=103) e Grupo Tratado - implante intravaginal (Progestar[®], Innovare, Brasil) contendo 1,72g de progesterona (n=102). No início da sincronização ambos os grupos foram tratados com 2mg de benzoato de estradiol (BE, Innovare, Brasil) intramuscular (IM). Os dispositivos permaneceram nos animais por oito dias, e no momento da retirada foram administradas 400UI de eCG (Novormon[®], Syntex, Argentina) IM e 530µg cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ouro Fino, Brasil) IM. Após 24 horas da retirada, foi

aplicado 1mg de BE IM, como indutor de ovulação. Analisando as novilhas (n=77), vacas solteiras (n=69) e paridas (n=59), obtiveram-se os seguintes resultados, respectivamente para os grupos controle e tratamento: taxa de aproveitamento (TA) 72,8% (n=103) vs 83,3% (n=102), de concepção (TC) 47,9% (n=73) vs 42,7% (n=82) e de prenhez (TP) 34,7% (n=101) vs 35,0% (n=100). Em análise posterior, as vacas paridas foram divididas em duas classes de período pós-parto: PP1 de 2 a 4 meses (n=35) e PP2 de 4 a 8 meses (n=24). Houve efeito da interação entre PP e condição ovariana (CO) para a variável TA, obtendo no PP2, os valores, significativamente diferentes ($P<0,05$), foram de 83,3% para as que estavam ciclando e 50% para as que não estavam ciclando. Também houve efeito de período pós-parto para TC e os valores de PP1 foi de 48,5% e no PP2 foi de 35,3% ($P<0,05$). Assim como para TC, houve efeito de PP para TP: vacas no PP1 tiveram 45,7% de prenhez, enquanto as que estavam no PP2, 26,4% ($P<0,05$). Concluiu-se que o novo dispositivo à base de biopolímeros Progestar[®] foi capaz de proporcionar taxas de ovulação, de concepção e de prenhez nas inovulações em programas TETF, em novilhas e vacas cruzadas, tanto quanto dispositivos confeccionados com silicone que liberam progestágenos (Crestar[®]).

Palavras-chave: Crestar[®]. Progestar[®]. Sincronização Receptora. PHB. TETF.

ABSTRACT

PARDO, F. J. D. **Use of a new intravaginal device for releasing progesterone-based ETFT program in embryo recipients (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*)**. [Emprego de um novo dispositivo intravaginal para liberação sustentada de progesterona em programas de TETF em receptoras de embrião (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*)]. 2008. 98 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

There are many factors for the successful of ET programs, and the recipients are the major factor on this biotechnique. Nowadays, the products available in the brazilian market for releasing progesterone are imported and made of silicone, a biocompatible polymer, but not biodegradable. Recently, intravaginal progesterone devices made of PHB, a biodegradable polymer made from bacteria fermentation of sugar cane, have been studied. The objective of this present study was to compare the efficiency in ET programs of a new intravaginal device on ovulation, conception and pregnancy rate, in croosbreed heifers and cows, with a device made of silicone Crestar[®], currently available in the brazilian market. The experiment was done with help of Embryo-sys[®] Company, which was responsible for the recipient's synchronizations and inovulations. The synchronizations and inovulations were done in three different places: Paranapanema-SP, Itapetininga-SP and Ouro Fino-MG. All the animals were kept in pasture of *Brachiaria decumbens* with mineral supplementation and *ad libitum* water. The body and ovary condition score, postpartum period and animal category were utilized for equal division of recipients (n=205), in two groups: control – auricular device (Crestar[®]) with 3mg of norgestomet (n=103) and treatment – intravaginal device (Progestar[®]) with 1.72g of progesterone (n=102). On day 0, all the animals received 2mg of estradiol benzoate (IM). On day 8, the devices were removed, 400UI of eCG and 500µg of PGF_{2α} were injected (IM). After 24 hours, was injected 1mg of estradiol benzoate (IM), as ovulation inductor. The animals had the following results, respectively for control and treatment group: ovulation rate (OR) – 72.8% (n=103) vs 83.3% (n=102), conception rate (CR) – 47.9% (n=73) vs 42.7% (n=82) and pregnancy rate (PR) – 34.7% (n=101) vs 35.0% (n=100). In further analysis, postpartum cows were divided in two classes: PP1 (2 - 4 months, n=35) and PP2 (4 - 8 months, n=24). There was an interaction between PP

and ovary condition (OC) on OR, in which animals in PP2 and cyclic showed better results (83.3%) than the animals not cyclic (50%). There was effect of PP on CR, and the values for PP1 and PP2 were 48.5% and 35.5%, respectively. There was also effect of PP on PR: cows in PP1 showed 45.7% of PR, while cows in PP2, 26.4%. This experiment showed that the new intravaginal device (Progestar[®]) had the same efficiency on ovulation, conception and pregnancy rate, in ET programs, in crossbreed heifers and cows, as the commercially available device Crestar[®].

Keywords: Crestar[®]. Progestar[®]. Recipient Synchronization. PHB. ET.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 HIPÓTESE	19
3 OBJETIVO	21
4 REVISÃO DE LITERATURA	23
4.1 Fisiologia da fêmea receptora em programas de TE	23
4.1.1 Ciclo estral e dinâmica folicular	23
4.2 Controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação em receptoras de embrião	26
4.2.1 Efeito farmacológico da PGF _{2α} e de seus análogos	26
4.2.2 Progesterona, progestágenos e estrógenos para sincronização do estro	28
4.2.3 Sincronização da Ovulação	32
4.3 Reconhecimento materno da Gestação	36
4.4 Morte embrionária e fetal	38
4.5 Transferência de embrião em bovinos	40
4.6 Polímeros Biodegradáveis	43
4.6.1 Polímeros Biodegradáveis utilizados em implantes intra-vaginais	44
5 MATERIAL E MÉTODO	48
5.1 Delineamento experimental	48
5.2 Local e Animais	48
5.3 Dispositivos intravaginais e tratamentos	50
5.4 Variáveis dependentes	53
5.5 Análise Estatística	54
6 RESULTADOS	57
6.1 Receptoras Vacas Paridas	59
7 DISCUSSÃO	64
7.1 Taxa de aproveitamento	64
7.2 Taxa de concepção	66
7.3 Taxa de prenhez	67
7.4 Receptoras Vacas Paridas	69
7.5 Outras variáveis independentes	73
8 CONCLUSÃO	76
REFERÊNCIAS	78

1 INTRODUÇÃO

A pecuária é um dos setores da economia nacional que mais vem crescendo nas últimas décadas. Atualmente o Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo, possuidor do maior rebanho bovino comercial do mundo com cerca de 207 milhões de cabeças (ABIEC, 2008) e grande produtor de leite, ocupando o sexto lugar em produção leiteira (ANUALPEC, 2006). Com Produto Interno Bruto (PIB) de mais de 150 bilhões de reais e produção anual de 9 milhões de toneladas de carne sendo 2,4 milhão de tonelada para exportação, obtém assim 4,5 bilhões de dólares (ABIEC, 2008). Muito disso se deve ao gado zebuino brasileiro, representado principalmente pela raça Nelore e Gir.

No Brasil no ano de 2002 foram transferidos cerca de 110.000 embriões bovinos, sendo uma quantidade de embriões inovulados superior ao Canadá neste mesmo período (HASLER, 2001). Thibier (2003) atenta que neste mesmo ano de 2002 o aumento no número de embriões produzidos por múltipla ovulação e transferência de embriões inovulados e comunicados é de 538.312, 20% maior do que o registrado em 2001. Destaque para o aumento no número de embriões bovinos produzidos *in vitro*, cerca de 83.329, particularmente pela produção do Brasil e da República Popular de China. Esse aumento do número de embriões transferidos no mundo se deve, principalmente, ao aumento no número de países que reportaram ou aumentaram a abrangência dos relatos da atividade, como nos casos da China, Índia, Colômbia, Croácia, Moldávia, Sudão, Zâmbia, Zimbábue e Austrália. Em contrapartida neste mesmo período observou-se uma redução da atividade na Europa e nos Estados Unidos (THIBIER, 2003).

Observamos a importância das transferências de embriões (TE) no cenário das biotecnologias aplicadas à pecuária nacional. Segundo Spell (2001) inúmeros fatores interferem na eficiência de programas de TE, com destaque especial às receptoras (HASLER, 2001). Isto porque os programas de TE comerciais apresentam em geral baixas taxas de aproveitamento. Dentre os inúmeros fatores determinantes para o sucesso de programas de TE as receptoras merecem grande destaque por serem fator determinante no sucesso desta biotecnologia (HASLER, 2001; SPELL et al., 2001).

A grande procura por animais de alto mérito genético tem sido intensa na pecuária bovina, principalmente após o advento de biotecnias aplicadas à reprodução animal, como a transferência de embriões (TE) e, mais recentemente, a fertilização *in vitro* (FIV). A disseminação da FIV, especialmente em gado zebuino, alavancou o mercado e receptoras prenhes e sexadas de embriões geneticamente superiores, e estas receptoras têm tido uma enorme procura no mercado.

Normalmente o número de descendentes que uma fêmea pode gerar é restrito ao pequeno número de ovulações por ciclo estral, apesar das gônadas femininas dos mamíferos possuírem aproximadamente 400.000 oócitos. A disseminação do material genético zebuino esteve limitada à Inseminação Artificial (IA) até a década de 70, quando começaram os primeiros programas comerciais de transferência de embriões (TE). Assim, atualmente em decorrência de biotecnologias como superovulação e transferência de embriões (MOET) as fêmeas apresentam maior potencial para transferência de material genético (FERRAZ; ELLER, 1999).

Resultados de prenhez de embriões produzidos através da TE tem sido relatados na literatura levando em consideração o estágio de desenvolvimento do embrião, grau, qualidade, lado de transferência, tipo de corpo lúteo, entre outros. Contudo, os dados para embriões produzidos *in vitro*, bem como a avaliação das receptoras, têm merecido menor atenção. Pois o sucesso da TE e FIV depende da interação entre embrião e receptora (SPELL et al., 2001) e mortalidade embrionária associada com esse período pode causar significativas perdas econômicas (BINELLI et al., 2001).

Atualmente, novas biotecnologias como a bipartição, a sexagem, a fecundação *in vitro* e a clonagem de embriões, vem maximizar os processos envolvidos na transferência de embriões.

Bó et al. (2002) relataram que em um lote de receptoras tratadas com protocolos tradicionais, somente a metade dos animais é aproveitado para a inovulação. Considerando-se uma taxa de concepção de aproximadamente 50% do total de animais aproveitados, obtém-se aproximadamente um quarto de gestações deste lote ao final do tratamento. Os produtos atualmente disponíveis no mercado brasileiro de liberação sustentada de progesterona são importados e confeccionados a base de nylon e silicone. O silicone é uma matriz biocompatível, mas não biodegradável. Os novos dispositivos que vêm sendo fabricados em nossos

experimentos utilizam biopolímeros obtidos a partir da fermentação da cana-de-açúcar, por bactérias geneticamente modificadas e tem características biocompatíveis e biodegradáveis. Estes dispositivos têm como base na sua confecção PHB (poli-hidroxi-butirato) e PCL (poli- ϵ -caprolactona) e possuem cinética de liberação bastante semelhante à dos dispositivos comerciais, como demonstraram Pimentel et al. (2006) nos testes realizados de liberação *in vitro* e *in vivo*.

Este trabalho teve como objetivo estudar a eficiência do novo dispositivo intravaginal de liberação sustentada de progesterona no programa de TETF, em novilhas e vacas cruzadas, pela avaliação das taxas de aproveitamento, concepção e de prenhez.

HIPÓTESE

2 HIPÓTESE

Dispositivos à base de biopolímeros que liberam progesterona têm capacidade de proporcionar taxas de prenhez na TETF, semelhante aos dispositivos confeccionados em silicone.

3 OBJETIVO

Estudar a eficiência do novo dispositivo intravaginal de liberação sustentada de progesterona no programa de TETF, em novilhas e vacas cruzadas, pela avaliação das taxas de aproveitamento, concepção e de prenhez.

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Fisiologia da fêmea receptora em programas de TE

4.1.1 Ciclo estral e dinâmica folicular

O período que compreende dois estros consecutivos envolvendo crescimento dos folículos ovarianos é denominado como um ciclo estral que tem duração entre 18 a 24 dias em vacas e novilhas, com um intervalo médio de 21 dias e é caracterizado em 95% dos ciclos pelo desenvolvimento de duas a três ondas foliculares (GINTHER; KASTELIC; KNOPF, 1989).

A emergência da onda folicular é caracterizada por um crescimento sincrônico de mais de 20 pequenos folículos com diâmetro de aproximadamente 3 a 4 mm (GINTHER; KASTELIC; KNOPF, 1989). Durante os dois primeiros dias esses folículos apresentam uma taxa de crescimento semelhante, quando então um folículo é selecionado para continuar a se desenvolver (folículo dominante), enquanto os demais interrompem seu crescimento e entram em atresia (folículos subordinados) (MAPLETOFT; BÓ; ADAMS, 2000).

O crescimento dos folículos ovarianos em bovinos ocorre em um padrão denominado ondas de crescimento folicular (GINTHER et al., 1989; ADAMS et al., 1992; BO et al., 1994), no qual em um ciclo estral há normalmente a emergência de duas ou três ondas de crescimento folicular (BINELLI, 2000). Durante o ciclo estral uma onda de folículos emerge entre os dias 1 e 3 após o estro. São geralmente em torno de 10 a 50 folículos neste grupo com o tamanho de 2 a 3 mm cada. Nos dias subsequentes partes desses folículos crescem para 4 a 6 mm, sendo que 2 a 5 folículos maiores do grupo continuarão a crescer enquanto que os outros regredem. Neste grupo de folículos pelo menos um continua a crescer e torna-se dominante (BÓ et al., 1994), este momento é denominado divergência, após isso essa onda na maioria das vezes inicia sua atresia. Durante a primeira onda de crescimento folicular ocorre a divergência folicular entre os dias 2 e 4 da fase de crescimento (GINTHER et al., 1996).

O desenvolvimento do folículo dominante é dividido em 3 fases: fase de crescimento, estática e de regressão. Na primeira onda de desenvolvimento folicular a fase de crescimento vai desde a emergência até em torno do oitavo dia após o estro, a fase estática ocorre entre o oitavo e décimo dia e a fase de regressão ocorre após o décimo dia, para fêmeas que apresentam duas ondas de crescimento folicular, sendo que na existência de três ondas de crescimento têm-se do sexto ao sétimo dia para estática e sétimo a oitavo para regressão (SILCOX et al., 1993). Em fêmeas de duas ondas, ao redor do oitavo dia do ciclo estral ocorre emergência da segunda onda de crescimento folicular e o processo se reinicia. O folículo dominante dessa segunda onda de crescimento folicular regride (se houver três ondas) ou se torna folículo ovulatório se ocorrer apenas duas ondas (BO et al., 1995).

O desenvolvimento do ciclo estral e conseqüente crescimento folicular são regulados por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos principalmente os hormônios hipotalâmicos, as gonadotrofinas e os esteróides (secretados pelos ovários). A regulação de secreção destes hormônios durante o ciclo estral requer um delicado balanceamento entre complexas interações hormonais, podendo ser denominados de mecanismos de *feedback*. O folículo dominante que escapa da atresia secreta quantidades crescentes de E_2 (estradiol) que induz mudanças de comportamento associadas ao estro e pico de LH (hormônio luteinizante). O folículo ovulado sofre mudanças estruturais e funcionais e dá origem a uma estrutura denominada corpo lúteo (CL) (BINELLI, 2000), esta estrutura é responsável pela secreção de progesterona (P_4), hormônio essencial para ciclicidade normal da vaca (BO et al., 2000). Durante a fase de secreção de P_4 ocorrem aumentos periódicos de secreção do hormônio FSH (hormônio folículo estimulante), o qual estimula a emergência das ondas foliculares. Neste raciocínio vacas com 2 ondas de crescimento folicular tem dois aumentos de FSH e vacas com três ondas tem três aumentos (BO et al., 2000). Em torno do quarto dia após a ovulação, quando o folículo dominante tem aproximadamente 10 mm de diâmetro ocorre a transição da dependência de FSH para LH (divergência folicular), sendo este estágio o ponto crítico para o progresso do crescimento do folículo dominante (GINTHER et al., 1996). Nas observações de Jolly et al. (1994) o LH estimulou o AMPc (AMP cíclico) em células da granulosa somente em folículos com mais de 9mm de diâmetro, provando então que folículos com mais de 9mm de diâmetro adquirem receptores para LH e portanto capacidade ovulatória. Enquanto que nos zebuínos esta

capacidade é alcançada a partir de 7 mm e nos taurinos a partir de 8,5 mm (GIMENES, 2005). Durante a fase luteal (período de formação e atividade do corpo lúteo) do ciclo estral e em vacas gestantes a progesterona secretada pelo corpo lúteo produz *feedback* negativo na liberação do LH, e por esta razão não ocorre ovulação (FORTUNE, 1994). Se ocorrer uma baixa pulsatilidade de LH após a divergência dos folículos surge um *turnover* de folículos e subsequente aumento do número de ondas de crescimento folicular por ciclo estral (MURPHY et al. 1990).

Portanto o que determina a ocorrência de duas ou três ondas de crescimento folicular parece ser a taxa de crescimento, que pode ser dependente do padrão de secreção do LH e ainda a duração da fase luteal no ciclo estral normal. Se a regressão do corpo lúteo ocorrer enquanto o folículo dominante da segunda onda for funcional (fase de crescimento ou estática), ele será ovulatório (ciclo estral com duas ondas), porém, se o folículo já iniciar a fase de regressão no momento da luteólise haverá o crescimento de outro folículo dominante da terceira onda de crescimento folicular (KASTELIC et al. 1990).

No trabalho de Figueiredo et al. (1997) a dinâmica folicular para vacas e novilhas cruzadas nelore (*Bos taurus indicus*) foi caracterizada pela presença de duas ou três ondas de crescimento folicular. Tal padrão de crescimento folicular é igual a padrões reportados para fêmeas cruzadas européias (*Bos taurus taurus*) (FIGUEIREDO et al., 1997) as quais apresentaram também duas ou três ondas de crescimento folicular predominantemente. Neste mesmo trabalho os animais que foram acompanhados por dois ciclos seguidos apresentaram o mesmo padrão de crescimento folicular, no entanto, um terço apresentou variação no número de ondas de crescimento folicular de um ciclo para o outro.

Novilhas Brahman (*Bos taurus indicus*) apresentaram entre uma e quatro ondas de crescimento folicular, porém a predominância é de três ondas foliculares (RHODES et al., 1995).

4.2 Controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação em receptoras de embrião

4.2.1 Efeito farmacológico da $\text{PGF}_{2\alpha}$ e de seus análogos

A possibilidade de controle farmacológico do ciclo estral em bovinos tem início na década de 70 com a descoberta de uma luteosina natural a prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) (Mc CRACKEN, 1972). Desde então esta substância e seus análogos têm sido os agentes farmacológicos mais utilizados no tratamento para sincronização do estro em fêmeas bovinas (ODDE, 1990). O sucesso da sincronização do estro com $\text{PGF}_{2\alpha}$ é dependente da presença de um CL, pois esta provoca sua regressão morfológica e funcional (RATHBONE et al., 2001). Estudos mostram grande taxa de regressão do CL quando a $\text{PGF}_{2\alpha}$ é administrada por via intramuscular entre os dias 6 a 17 do ciclo estral (VASCONCELOS, 1998). Porém, o tratamento de sincronização do estro com uso exclusivo de $\text{PGF}_{2\alpha}$ para IATF apresenta baixas taxas de fertilidade. Resultado do estágio variável de crescimento folicular, não sincronizando a onda de crescimento folicular (KASTELIC; GINTHER, 1991).

A maturidade do CL no momento da aplicação influencia a resposta luteínica. Assim a $\text{PGF}_{2\alpha}$ não induz efetivamente a luteólise durante os primeiros 5 ou 6 dias após o estro (MOMONT; SEGUIN, 1984). Acreditava-se que essa falta de responsividade do CL imaturo fosse decorrente de uma deficiência em número ou afinidade de receptores para a $\text{PGF}_{2\alpha}$, todavia, a presença de receptores com alta afinidade para $\text{PGF}_{2\alpha}$ no CL foi demonstrada a partir de dois dias após a ovulação (WILTBANK et al., 1995). Verificou-se que o CL maduro possui um sistema de *feedback* positivo que resulta na produção intraluteal de $\text{PGF}_{2\alpha}$, possibilitando a continuidade do processo luteolítico iniciado por uma única aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (WILTBANK, 1997). Mesmo nas fêmeas em que se verifica efetivamente a luteólise, a ocorrência do estro é distribuída num intervalo de mais de seis dias, o que torna impraticáveis os programas de inseminação e transferência em tempo fixo (BÓ et al., 2002).

A variação no intervalo entre a aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$, o estro e a ovulação acontece por este ser dependente do estado de desenvolvimento das ondas

foliculares no momento do tratamento (MAPLETOFT; BÓ; ADAMS, 2000). Assim, quando o tratamento é realizado e o folículo dominante esta na fase final do seu crescimento, ou no início da sua fase estática, a ovulação ocorrerá dentro de 3 ou 4 dias; por outro lado se a $\text{PGF}_{2\alpha}$ for aplicada quando o folículo dominante estiver no meio ou no final da sua fase estática, a ovulação ocorrerá 5 a 7 dias depois, ou seja, após o crescimento do folículo dominante da próxima onda folicular (KASTELIC; GINTHER, 1991).

A grande variação no intervalo de tempo entre o tratamento e a ovulação reforça a necessidade de protocolos destinados a controlar tanto o estado luteal quanto o folicular, para possibilitar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e a sincronização do estro, sem a necessidade de detecção de cio nas fêmeas receptoras (MAPLETOFT; BÓ; ADAMS, 2000).

Atualmente vários métodos para controlar o crescimento folicular são utilizados associadamente a $\text{PGF}_{2\alpha}$ assim como seus análogos. Tratamentos com análogos de GnRH induziram a ovulação ou a luteinização de um folículo dominante (PURSLEY, 1997), a regressão de folículos dominantes e crescimento de nova onda folicular sincronizada ocorreu quando foram utilizados estrógenos e progestágenos juntos a $\text{PGF}_{2\alpha}$ (BO et al., 1995).

Odde (1990) discute que a combinação de progestágenos e uma injeção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ antes ou na retirada do implante, pode provocar a regressão de um possível CL presente e assim a manifestação dos sinais de estro ocorreriam logo após a este tratamento. Entretanto, devemos considerar que a aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ antes da remoção do implante implica em um manejo a mais com as vacas tratadas. Neste sentido, pensando em sincronizar também a ovulação, pode existir um aumento da secreção pulsátil de LH durante o período entre a luteólise, induzida pela $\text{PGF}_{2\alpha}$ exógena e a remoção do progestágeno (SCHIMITT, 1996), no qual Xu e Burton (1999) observaram que uma aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ na remoção do progestágenos aumentava a precisão do estro.

4.2.2 Progesterona, progestágenos e estrógenos para sincronização do estro

São vários os produtos utilizados encontrados comercialmente: acetato de melengestrol (MGA) administrado oralmente, “controlled internal drug release device” (CIDR-B[®] - interAg-Pfizer), “P₄ releasing intravaginal device” (PRID[®] - Sanofi), “Dispositivo Intravaginal Bovino” (DIB[®] Syntex) e o Cronipres[®] - Biogenesis-Bagó, que são implantes intravaginais de P₄, e ainda o Crestar[®] - Intervet) e o Sincro-Mate-B[®] (Sanofi) que são implantes subcutâneos de Norgestomet (progestágeno).

Os progestágenos são compostos similares a progesterona (P₄). Podem ser administrado por via oral, como o acetato de melengestrol (MGA), por meio de implantes subcutâneos de norgestomet (Crestar[®] e Sincro-Mate-B[®]) ou através de dispositivos intravaginais da própria P₄ (CIDR-B[®] e PRID[®]) (BÓ, 2000).

Tais compostos têm sido utilizados desde a década de 60 com o objetivo de simular uma fase luteal por períodos que permitam a regressão espontânea do CL, o que leva a uma sincronização do estro dentro de aproximadamente de 2 a 4 dias após a remoção do agente progestacional (RATHBONE et al., 2001).

A liberação do LH pela hipófise é primeiramente controlada pela P₄ e pelo E₂ (KINDER et al., 1996). Assim a ovariectomia de fêmeas bovinas adultas resulta em aumento na frequência dos pulsos de LH pela hipófise (HOBSON; HANSEL, 1972; SCHALLIENBERGER; PETERSON, 1982), enquanto a administração de P₄ nas fêmeas ovariectomizadas resulta na supressão da liberação de LH (BECK et al., 1976).

No início da fase luteal (2 ou 3 dias após a ovulação, quando o CL ainda não está completamente formado) as concentrações de P₄ são menores e os pulsos de LH ocorrem numa frequência maior do que no meio da fase luteal (PETERS et al., 1994; CUPP et al., 1995). O mesmo ocorre após a luteólise, quando há maior concentração e frequência dos pulsos de LH, em consequência de uma concentração mais baixa de P₄ circulante (IMAKAWA et al., 1986).

A frequência dos pulsos de LH é controlada pelas doses de P₄ administradas. Quando a P₄ é administrada em altas doses a frequência dos pulsos é menor do que quando são administradas doses menores (ROBERSON et al., 1989).

No entanto, Roberson et al. (1989) observaram que a liberação de LH após a administração de altas doses de P_4 foi maior quando comparada àquela encontrada na presença de um CL funcional, apesar das concentrações plasmáticas desse esteróide terem sido similares nos dois grupos avaliados. Resultados semelhantes foram obtidos por Kojima et al. (1992) em que a P_4 exógena não suprimiu a liberação dos pulsos de LH na mesma extensão que a P_4 endógena secretada pelo CL.

Por outro lado Bergfeld et al. (1995) trataram um grupo de fêmeas com diferentes doses de P_4 , resultando numa variação em suas concentrações plasmáticas; outro grupo de fêmeas foi tratado com diferentes doses de $PGF_{2\alpha}$ com o objetivo de destruir parcialmente o CL e causar variações nas concentrações plasmáticas de P_4 . Os pulsos de LH tiveram menor frequência concomitantemente com as maiores concentrações de P_4 , independentemente de sua fonte ser endógena ou exógena. Esses resultados indicaram que a P_4 exógena ou endógena possui efeito semelhante no controle da liberação de LH, ao contrário do que foi proposto por Kojima et al. (1992) e por Roberson et al. (1989).

Sanchez et al. (1995) observaram que vacas tratadas com 4 implantes de norgestomet apresentaram frequências de pulsos de LH similares às vacas em sua fase luteal. No entanto, estes autores verificaram que a frequência dos pulsos de LH era maior no final do tratamento do que durante o seu período inicial, mesmo quando o norgestomet havia sido administrado em doses 8 vezes maiores que as usadas comercialmente.

Baseando na variação de frequência dos pulsos de LH durante o tratamento com progestágenos, foi especulado que a maior frequência encontrada em vacas tratadas com progestágenos quando comparadas com aquelas em sua fase luteal, mesmo na presença de concentrações plasmáticas de P_4 similares, como observado por Kojima et al. (1992) e Roberson et al. (1989), foi devida ao fato da avaliação do padrão dos pulsos de LH ter sido realizada um dia antes do final do tratamento com progestágeno, sendo que, se o padrão de liberação de LH tivesse sido avaliado no início do tratamento a frequência dos pulsos de LH provavelmente teria sido menor do que a encontrada (KINDER et al., 1996).

A P_4 inibe o estro, a ovulação e altera a dinâmica folicular, atuando sobre o hipotálamo e regulando a liberação GnRH (PETERS et al., 1994) e, conseqüentemente do LH (KINDER et al., 1996). Assim a administração de progestágenos por um período suficiente para permitir a regressão natural do CL (ou

seja, 14 dias ou mais) pode induzir o estro sincronizado (RATHBONE et al 2001), uma vez que a supressão do tratamento progestacional leva à ocorrência do pico de LH e ovulação (KESNER; PADMANBHAN; CONVEY, 1982).

O tratamento com progestágenos por tempo prolongado de 14 a 21 dias é efetivo para a sincronização do estro, no entanto, a fertilidade deste estro sincronizado é reduzida (ODDE, 1990). A maior sincronia obtida pelo tratamento com progestágeno por tempo prolongado ocorre porque o padrão de desenvolvimento de ondas foliculares não é mantido e o folículo dominante de tamanho acima do normal persiste até o tratamento seja interrompido (SIROSIS; FORTUNE, 1990; LARSON; BALL, 1992). Assim a ovulação destes folículos persistentes pode ser a razão da baixa fertilidade decorrente da sincronização do estro com a utilização de progestágenos (ODDE, 1990; SAVIO et al., 1993).

O nome progestágenos é utilizado para substâncias farmacológicas com efeitos similares a progesterona. Quimicamente o norgestomet 17-acetyloxy-11 β -methyl-19-norpregn-4-ene-3,20-dione) resulta da modificação do 19-norprogesterone e tem demonstrado ser um progestágeno altamente ativo biologicamente (KESLER et al., 1995).

Nos anos 50 diversos progestágenos ativos por via oral foram sintetizados, mas somente na década de 60 é que estes esteróides começaram a ser empregados na sincronização do estro de bovinos. Tratamentos com progestágenos por períodos prolongados sincronizam o estro com precisão, porém as inseminações artificiais após o estro sincronizado resultaram em baixa taxa de prenhez (BARROS et al., 2000).

O progestágeno é utilizado para inibir o desenvolvimento de um corpo lúteo (CL) em fêmeas que ovularam recentemente (próximo a data de colocação do implante) ou inibir a ovulação se a fêmea estiver no final do ciclo estral (ODDE, 1990). Porém, dispositivos de progestágenos implantados na ausência de CL na fêmea provocam a formação de um folículo dominante (FD) persistente que quando ovula produz um ovócito de baixa qualidade (SMITH; STEVENSON, 1995), isto se deve à alteração do padrão secretório de LH (alta frequência e baixa amplitude) (RAJAMANHENDERAN; TAYLOR, 1991), característico de fase folicular e não um padrão de alta amplitude e baixa frequência, característico do diestro provocando então uma manutenção prolongada do folículo dominante, interrompendo o padrão usual do crescimento folicular em ondas. Este padrão secretório desencadeia o

mecanismo de maturação nuclear, porém, insuficiente para promover a ovulação, no entanto, esta se torna presente quando é interrompida a administração do progestágeno (MADUREIRA, 2000). À medida que os conhecimentos sobre a dinâmica folicular e efeitos de progesterona e progestágenos sobre o desenvolvimento folicular foram crescendo durante a década de 90, alteraram-se os princípios empregados na concepção de protocolos de sincronização do estro. Talvez um dos principais conceitos introduzidos tenha sido o de que incrementos na taxa de concepção poderiam ser obtidos com a atresia do folículo dominante no início do tratamento com progesterona/progestágenos, impedindo assim a formação de folículos persistentes, permitindo o desenvolvimento de uma nova onda folicular da qual resultaria o folículo dominante ovulatório apto à fertilização (MADUREIRA, 2000).

Caccia e Bó (1998) investigaram a utilização de estrógenos junto aos programas que usam progestágenos e verificaram que a administração de estradiol induzia a atresia do folículo dominante daquele momento, proporcionando então o crescimento de uma nova onda folicular. O valerato de estradiol é um éster do 17 β -estradiol modificado na posição 17 e de longa ação, comparado com o benzoato de estradiol (WILLIAMS; STANCEL, 1996). A utilização de um protocolo de sincronização do ciclo estral pela associação de norgestomet (subcutâneo e injetável) mais estradiol (injetável), possibilitaria o emprego da IA em fêmeas sem a necessidade de acompanhamento dos sinais do estro (MURTA et al., 2001).

A associação do progestágeno com o valerato de estradiol induz o cio em 77 a 100% dos animais tratados, sendo que taxas superiores a 90% são encontradas na maioria dos trabalhos já publicados. Entretanto, a taxa de concepção em relação ao estro induzido varia muito (33 a 68%) sendo influenciada pelo dia do ciclo estral em que o tratamento é iniciado e pela condição corporal dos animais (ODDE, 1990).

O ponto crucial para o sucesso de um programa de sincronização é o controle preciso do início da onda de crescimento folicular e da ovulação que permite a inseminação artificial em tempo fixo sem a necessidade da detecção do estro. As prostaglandinas utilizadas isoladamente não promovem sincronização aceitável, porque o momento da ovulação depende do estágio do desenvolvimento folicular no momento da indução da luteólise pela prostaglandina (KASTELIC et al., 1996; DRIANCOURT, 2000).

O Crestar[®] consiste em um implante auricular de silicone com 3 mg de Norgestomet e mais uma porção injetável de 3 mg de Norgestomet com 5 mg de valerato de estradiol. Este produto segundo Kesler et al. (1995) promove uma liberação mais homogênea de Norgestomet em comparação ao implante hidrônico do Syncro-mate-B[®], mostrando ainda melhores taxas de prenhez (KASTELIC et al., 1997; BARUFI et al., 1999). O princípio de funcionamento do Crestar[®] é a inibição da manifestação do estro, em que a dosagem de 200µg de norgestomet por dia sensibiliza os ovários mimetizando a presença de um corpo lúteo. Na sequência provoca uma queda brusca do nível de P₄ e o aparecimento de novas ondas foliculares, bloqueando com este mecanismo a ovulação (INTERVET, 2008).

O norgestomet se liga a receptores de progesterona com uma potência mais efetiva do que o hormônio natural. Em doses altas este pode ligar-se também aos receptores de estrógenos, atividade estrogênica (MORFFATT et al., 1993).

Taylor et al. (1993) observaram que quando o norgestomet é administrado na presença de um corpo lúteo (CL) não provoca alterações no padrão secretório de LH. Entretanto, quando se comparam os padrões de liberação de LH entre novilhas no diestro e novilhas no proestro, ambas com implantes, verificaram que os animais no proestro apresentaram maior frequência e menor amplitude dos pulsos de LH, levando à persistência do folículo pré-ovulatório, o que não ocorreu quando o corpo lúteo estava presente.

4.2.3 Sincronização da Ovulação

A sincronização da ovulação é uma ferramenta importante quando o objetivo é trabalhar com IA em tempo fixo ou TE em tempo fixo, assim, a aplicação de hormônios que possam promover um mecanismo de *feedback* positivo para LH no momento final do crescimento folicular tem papel fundamental por tornar preciso o momento e o mecanismo da ovulação. Os produtos Syncro-mate B[®], Crestar[®], CIDR[®] e PRID[®] oferecem alta porcentagem de animais em estro num período bastante curto, o que possibilita a realização de IA em tempo fixo geralmente entre 48 e 60 horas após a retirada dos implantes. Esta possibilidade ocorre porque o *status* folicular, no final do tratamento é bastante homogêneo entre os animais o que

possibilitaria a sincronização da ovulação mediante a aplicação de drogas que desencadeiem o pico pré-ovulatório de LH (MADUREIRA, 2000).

Os estrógenos e os andrógenos são carregados por proteínas na circulação. De todos os esteróides os estrógenos apresentam a maior variação de funções fisiológicas. O estrógeno age sobre o sistema nervoso central para induzir o comportamento do estro na fêmea, porém pequenas quantidades de progestágenos com estrógenos são necessárias em ovelhas e vacas para indução do estro, sendo o estradiol o estrógeno biologicamente ativo produzido pelo ovário (KALTENBACH; DUNN, 1988). A aplicação de 0,5 a 1,0 mg de benzoato de estradiol 24 horas após a retirada dos implantes de progesterona (CIDR[®]) sincroniza o estro e a ovulação aumentando inclusive a porcentagem de fêmeas bovinas que ovulam após o tratamento (MACMILLAN, 1999).

O estrógeno pode agir como um agente sincronizador da ovulação, induzindo um pico de LH através de *feedback* positivo ao GnRH e conseqüentemente liberação de LH, que foi estudo de Macmillan e Burke (1996) e Madureira et al. (1997), no qual foi observado também que a aplicação de 0,75 mg ou 1,0 mg de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção do implante do progestágeno é eficaz para o pico de LH pré-ovulatório, constatado também por Barbuio et al. (1999).

A otimização do uso de progesterona e progestágenos deve assegurar que o período de tratamento seja menor que a duração da fase luteínica do ciclo e que um tratamento luteolítico/antiluteotrópico seja administrado. O benzoato de estradiol é normalmente administrado em tratamentos com progestágenos para iniciar a luteólise, que é induzida pela estimulação uterina (DRIANCOURT, 2000).

O estradiol quando aplicado logo após a ovulação parece agir como antiluteotrópico, quando aplicado na presença de corpo lúteo ativo é geralmente luteolítico, embora sua habilidade de induzir a regressão do corpo lúteo seja mais limitada, 3-5 dias após a ovulação, do que em fases mais adiantadas do ciclo estral (PRATT et al., 1991).

O 17 β -estradiol, benzoato de estradiol e o valerato de estradiol apresentam efeito dose dependente normalmente variável. De modo geral, quando aplicado na presença de folículos FSH-dependente induz regressão pela redução das concentrações de FSH por *feed-back* negativo. Emergência de uma nova onda de crescimento folicular ocorre quando os níveis de estradiol retornam a valores basais

e novo aumento de FSH é observado (BÓ et al., 1993, 1994, 1995a). Quando aplicado na presença de folículo LH-dependente o estradiol parece não induzir atresia folicular, mas previne a emergência de nova onda de crescimento folicular até que tenha voltado a níveis basais. Assim o estradiol pode ser utilizado com maior sucesso em combinação com progestágenos, uma vez que o estradiol causa atresia de folículos FSH-dependentes, enquanto os progestágenos induzem atresia de folículos LH-dependentes (DRIANCOURT, 2000).

Independentemente do estágio da onda folicular, no início do tratamento a combinação de 17β -estradiol e progestágeno induz emergência de nova onda de crescimento folicular 4 dias após o tratamento (BÓ et al., 1995b; ROCHA, 2000).

O uso de estradiol após um curto período de exposição à progestágenos é aplicado em vacas leiteiras em anestro a fim de incrementar a indução, detecção e precisão do estro (DAY et al., 2000), mostrando também que o desenvolvimento folicular após uma injeção de benzoato de estradiol 48 horas após a remoção do implante resultou em um estro sincronizado em 98% das vacas tratadas e uma taxa de concepção 70% pela primeira IA após a detecção do estro.

Vale a pena ressaltar que o benzoato de estradiol tem um menor custo em relação aos análogos de GnRH. Este provoca a liberação de LH pela hipófise anterior que atua diretamente no folículo dominante causando ovulação (PURSLEY et al., 1995). Seguin et al. (1976) testaram 5 doses de GnRH (25, 50, 100, 150, 250 μ g) em vacas leiteiras com cisto folicular e observaram que a concentração de LH aumentava de forma proporcional a dose administrada.

O GnRH tem sido utilizado para diminuir a variação no tempo de ovulação após o tratamento com prostaglandinas viabilizando a inseminação artificial em tempo fixo em bovinos. A aplicação de GnRH causa ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento desde que não esteja na fase de crescimento e sim no início da fase após a divergência, para possibilitar o aparecimento de uma nova onda de crescimento folicular 2 à 3 dias após o tratamento com GnRH (PURSLEY et al., 1995; TWAGIRAMUNGU et al., 1995; BODENSTEINER et al., 1996).

A administração de GnRH ou estradiol pode induzir um pico de LH, mas a ovulação seguida da formação de um corpo lúteo com vida normal pode não ocorrer a menos que este pico de LH tenha sido precedido por uma fase lútea normal ou por algum tratamento com progestágeno durante um período mínimo de 7 dias.

Tratamentos envolvendo única ou múltiplas aplicações de GnRH associados a implantes de norgestomet ou algum outro implante de progesterona, com ou sem a remoção temporária da amamentação, podem ser usados para induzir a ovulação em vacas lactantes (BARROS et al., 2000).

Efeitos na sincronização da ovulação foram relatados por Vasconcelos et al. (1994) com a aplicação de GnRH 30 horas após a retirada do implante do Syncro-Mate B® e posteriormente a IA era feita 24 horas após a aplicação do mesmo GnRH.

Outra gonadotrofina conhecida e utilizada é o eCG (gonadotrofina corionica equina), esta está circulante na égua prenhe entre o 40º e o 130º dias de gestação (HAFEZ et al., 1988). O eCG estimula o desenvolvimento de folículos ovarianos. Alguns destes folículos ovulam, porém a maioria forma um folículo luteinizado devido à ação semelhante à do LH pelo eCG. Este possui ações biológicas de LH e principalmente de FSH. O eCG foi uma das primeiras gonadotrofinas disponíveis comercialmente sendo utilizada para induzir superovulação (HAFEZ et al., 1988).

Tratamentos com eCG ou FSH aumentam as concentrações de estrógeno pelo crescimento folicular antes da ovulação. O FSH exógeno bem como o eCG e hCG tem potencial para estimular o crescimento e induzir a ovulação dos folículos no pós-parto, respectivamente (YAVAS; WALTON, 2000a). A aplicação de 400 U.I. de eCG na retirada dos implantes incrementou o grau de sincronização da ovulação, reduziu significativamente o tempo de ovulação e o aparecimento do pico de LH (CAVALIERI et al., 1997).

A vantagem de se utilizar eCG nos protocolos de sincronização, é que este hormônio é administrado no momento da remoção do implante de progestágenos, evitando assim um trabalho a mais de manipulação do animal quando comparado a outros protocolos. A extensão do anestro pós-parto em vacas Brahman amamentando como citado por Henao et al. (2000) pode ser explicada pela baixa secreção de LH, ou seja, nestes animais há uma redução na frequência dos pulsos de secreção de LH evitando a maturação e ovulação do folículo dominante. Resultados semelhantes também foram encontrados por Ruiz-Cortés et al. (1999) mostrando uma vantagem em se usar hormônios para tornar mais preciso o pico de LH e melhorar sincronização da ovulação, na qual fêmeas *Bos taurus indicus* apresentam uma maior sensibilidade a gonadotrofinas exógenas (CAVALIERI et al., 1997).

Portanto é possível não só sincronizar o estro, mas também a ovulação pelo uso de GnRH, benzoato de estradiol, ou eCG e realizar a IA em tempo fixo (MADUREIRA, 2000).

Sendo assim, protocolos eficientes de tratamento para sincronização da ovulação precisam induzir atresia de folículos grandes presentes nos ovários sejam qual for o estágio de desenvolvimento, resultando em recrutamento de uma nova onda de crescimento folicular, desenvolvimento sincronizado de um novo folículo dominante em todas as fêmeas e ovulação em horário pré-determinado (DRIANCOURT, 2000).

4.3 Reconhecimento materno da Gestação

Em Bovinos o processo de reconhecimento materno da prenhez requer que moléculas do concepto interajam com o endométrio uterino a fim de suprir a secreção pulsátil de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e bloquear o processo de regressão do CL.

Para Goff (2002) é provável que o momento da elevação da P_4 plasmática após a ovulação e sua manutenção em níveis mais altos durante a fase lútea sejam importantes para a manutenção da prenhez.

A luteólise ocorre entre os dias 15 e 19 do início da prenhez, período considerado crítico em virtude da secreção pulsátil de $\text{PGF}_{2\alpha}$, que é revertido se o concepto enviar sinais antiluteolíticos e o endométrio responder bloqueando a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (BINELLI et al., 2001, 2004; GOFF, 2002).

A secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ é desencadeada pela ligação da ocitocina aos receptores no endométrio (MCRACKENA et al., 1995). A presença de E_2 é fundamental para que a luteólise ocorra, uma vez que sua produção é estimulada pela baixa concentração de P_4 , que leva ao aumento da frequência de liberação dos picos de LH, estimulando o crescimento do folículo dominante (ROBERSON et al., 1989). O E_2 por sua vez estimula o desenvolvimento de receptores para ocitocina no endométrio, responsável pela produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (BEARD; LAMMING, 1994).

O interferon- τ (IFN-T) secretado pelo concepto por via parácrina é o principal regulador do processo antiluteolítico, bloqueando a secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo endométrio (BINELLI et al., 2001, 2004). Meyer et al. (1995) comentam que infusões

de IFN-T no útero podem prolongar o ciclo estral e diminuir sensivelmente a secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em resposta a uma injeção de ocitocina. A participação da ocitocina no mecanismo luteolítico ainda não é totalmente conhecida (ROBINSON et al., 2001).

A comunicação entre o concepto e as células epiteliais do endométrio materno são frequentemente mal sucedidas, resultando em luteólise e mortalidade embrionária entre os dias 8 a 16 após a inseminação artificial, podendo atingir 30% (DISKIN; SREENAN, 1980; BINELLI et al., 2004).

De acordo com Mann et al. (1999) vacas cujas concentrações plasmáticas de P_4 sejam altas durante o período crítico têm conceptos maiores, com maior capacidade de produzir IFN-T. Em contrapartida, baixos níveis plasmáticos de P_4 podem influenciar o desenvolvimento embrionário, resultando em baixas secreções de IFN-T e menor capacidade para inibir a secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (KERBLER et al., 1997).

A síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ é o resultado final de uma complexa cascata de ocorrências intracelulares. Essa cascata envolve a ativação seqüencial da proteína acoplada da guanosinatrifosfato (GTP), da fosfatase-C, da proteína quinase-C, da fosfatase- A_2 e da ciclooxygenase-2 (COX-2). Esta última converte o ácido araquidônico em prostaglandina- H_2 , que é convertida em $\text{PGF}_{2\alpha}$, conforme descrevem Burns et al. (1997). Estratégias que promovam a inibição específica das enzimas que participam da síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante o período crítico devem aumentar as taxas de prenhez em fêmeas bovinas (BINELLI et al., 2004).

Elli et al. (2001) administraram lisinato de ibuprofeno, um antiinflamatório não esteroide que inibe a atividade da enzima COX-2, uma hora antes da TE. As taxas de prenhez dos animais tratados foram maiores do que aquelas encontradas nos animais do grupo controle (82% e 56%, respectivamente).

Com o objetivo de aumentar o número de corpos lúteos, as condições de P_4 e as taxas de prenhez, Baruselli et al. (2000) realizaram um experimento que envolveu dois grupos de receptoras de embrião bovinos. O Grupo 1 recebeu implante de 1,9g de progesterona (CIDR-B[®]), além da aplicação via intramuscular (IM) de 2mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]) e de 50 mg de progesterona no dia 0; no dia 7 pela manhã os animais receberam 500µg (IM) de cloprostenol sódico (Ciosin[®]) e à tarde os implantes foram retirados; no dia 8 pela manhã administrou-se 0,5mg de BE (IM). O mesmo protocolo foi adotado para os animais do Grupo 2, entretanto, estes

também receberam no dia 5 pela manhã 800UI de eCG (Novormon[®]), via IM. O Grupo 2 apresentou maior percentual de animais inovulados e taxas de concepção de 52,6%, maior que a do Grupo 1 que foi de 29,45%. Com base em tais resultados os autores concluíram que o tratamento com eCG induziu a formação de maior número de corpos lúteos e, conseqüentemente, maiores taxas de prenhez que o controle (BARUSELLI et al., 2000).

Em um programa de TE realizado com 448 receptoras Spell et al. (2001) observaram que os diâmetros dos corpos lúteos e as concentrações plasmáticas de progesterona embora positivamente correlacionados entre si, não diferiram entre as fêmeas que se tornam prenhes ou não. No entanto, esse programa apresentou taxas de concepção de 83% e 69% para embriões a frescos e descongelados, respectivamente.

4.4 Morte embrionária e fetal

As perdas embrionárias e fetais podem ter efeitos devastadores sobre a eficiência das propriedades rurais. Os animais são diagnosticados como gestantes em torno do dia 40 de gestação e pouca atenção se emprega a partir de então até momentos próximos ao parto, ao menos que haja sinais evidentes de perda gestacionais (REIS, 2004).

A ultrasonografia e outros métodos para detecção precoce da gestação proporcionam a caracterização do momento das perdas gestacionais em bovinos. Segundo o Comitê de Nomenclaturas Reprodutivas em Bovinos (LOPEZ-GATIUS et al., 2002) o período embrionário estende-se da concepção ao final do período de diferenciação (em torno de 42 dias) e o período fetal estende-se do dia 42 ao parto.

Diversos fatores influenciam a mortalidade embrionária e fetal como o manejo, idade, lactação e procedência do embrião (SARTORI, 2004). Em bovinos acasalados por IA ou por monta natural relatam-se perdas do diagnóstico ao parto de 5 a 6% (DUNNE; DISKIN; SREENAN, 2000) chegando a 10% (LOPEZ-GATIUS et al., 2002).

Santos et al. (2004) relataram perda detectada por ultrasonografia de 4,2% das gestações em novilhas de corte primíparas entre 30 a 35 e 60 a 90 dias de

gestação. Dunne, Diskin e Sreenan (2000) também relataram perdas em novilhas de leite de 4,2% entre o diagnóstico aos 30 dias e o término da gestação. No entanto, Rivera, Lopez e Fricke (2004) mostraram perdas mais elevadas (10,2%) entre 30 e 75 dias de gestação. Em vacas elite de alta produção e estressadas, esse índice pode chegar a 42,7% entre 27 a 30 e 40 a 50 dias (CARTMILL et al., 2001).

Na TE esse fator torna-se mais importante pelos maiores índices de perdas relatados, principalmente em gestações resultantes de transferência de embriões produzidos *in vitro*, os quais possuem padrões de expressão gênica completamente diferentes dos produzidos *in vivo* (NIEMANN; WRENZYCKI, 2000). Perdas econômicas causadas por perdas embrionárias e fetais são substanciais, não somente pelo feto abortado, mas pela genética, custos da biotecnologia empregada e período em aberto da fêmea (JONKER, 2004).

Em gestações resultantes de TE produzidos *in vivo* Zanenga e Pedroso (1995) relataram perdas gestacionais entre 23 a 30 e 53 a 60 dias de 4,4%. Esse índice é baixo comparado ao trabalho de Sartori et al. (2003) que avaliaram as perdas embrionárias e fetais entre 25 a 32 e 60 a 66 dias em vacas de leiteiras de alta produção criadas nos Estados Unidos. Os animais foram submetidos a TE de embriões produzidos *in vivo* e encontraram-se perdas 26,2%.

O CL é a principal fonte de produção de P_4 na fêmea bovina gestante e os embriões e fetos são dependentes da P_4 luteínica por no mínimo 200 dias de gestação (NISWENDER et al., 2000). O papel da P_4 nas paredes embrionárias entre a primeira e a terceira semana de gestação foi extensivamente estudado. No entanto, poucos estudos analisaram o CL e a maturação da gestação a partir do diagnóstico. Foi relatada uma associação entre CL adicionais e a manutenção da gestação entre os dias 38 e 90, no qual animais com CL adicionais tinham 8,3 vezes menos chance de perder a gestação que animais com CL único (LOPEZ-GATIUS et al., 2002).

Foi realizado um grande estudo (LÓPEZ-GATIUS et al., 2004) com 1098 gestações em vacas de leite diagnosticadas nos dias 36 a 42 de gestação e confirmadas no dia 90. Os animais gestantes foram distribuídos em dois grupos experimentais. O grupo controle não recebeu tratamento algum, enquanto nos animais do grupo tratado foi inserido um PRID[®] por 28 dias com o objetivo de suprir concentrações plasmáticas de P_4 sub-ótimas durante o período embrionário tardio e o fetal inicial, diminuindo as perdas embrionárias e fetais nesse período. Os autores

obtiveram 95 perdas (8,7%); 66 perdas (12%) no grupo controle e 29 perdas (5,3%) no grupo tratado. O grupo tratado apresentou 2,4 vezes menos chance de perder a gestação que o grupo controle.

No entanto, um trabalho recente (NOGUEIRA et al., 2004) não verificou efeito do número de CL e da concentração plasmática de P_4 sobre as perdas embrionárias e fetais entre 21 e 83 dias de gestação em receptoras de embriões bovinos superovuladas com eCG. Os animais com P_4 de $3,93 \pm 0,73\text{ng/ml}$ e 0,82 CL apresentaram 5,3% (1/18) de perdas; $4,24 \pm 0,43\text{ng/ml}$ e 1,07 CL, 5,9% (1/6) de perdas; $5,95 \pm 0,41\text{ng/ml}$ e 1,16 CL, 0% (0/11) de perdas e $7,81 \pm 0,61\text{ng/ml}$ e 1,68 CL, 18,2% (2/9) de perdas. Os resultados encontrados nesta área ainda são controversos, sendo esta uma área promissora para pesquisas futuras.

4.5 Transferência de embrião em bovinos

O estabelecimento da gestação em receptoras de embriões é um evento multifatorial que envolve a interação de fatores hormonais, bioquímicos e fisiológicos (FARIN et al., 2001). A partir da disponibilidade de um embrião de boa qualidade e da habilidade de um técnico, a receptora passa a ser determinante do sucesso da transferência (BROADBENT et al., 1991). Como considerações iniciais para inclusão de animais em um grupo de receptoras o genótipo, idade, parição, estado fisiológico, condição corporal, sanidade e histórico reprodutivo devem ser avaliados. Também são avaliadas com base na habilidade de exibir estro dentro de um determinado tempo e finalmente, para constatação de um corpo lúteo adequado no momento da transferência. Receptoras qualificadas nesses critérios serão utilizadas para a transferência (BROADBENT et al., 1991).

A disponibilidade, custo e adaptação ao meio ambiente, em termos de suplementação nutricional, sanidade e mudanças climáticas são provavelmente os fatores mais importantes governando a escolha da receptora. Assim animais mestiços são preferidos aos puros, uma vez que são mais férteis e viáveis. Novilhas são preferidas por serem menos susceptíveis ao estresse nutricional e doenças. A suplementação energética e a condição corporal são fatores determinantes para o sucesso reprodutivo da receptora (BROADBENT et al., 1991).

A transferência de embriões (TE) produzidos *in vitro* requer a sincronização do útero da receptora com o estágio do embrião, de modo que apenas embriões de sete dias deverão ser transferidos para receptoras com sete dias (mais ou menos um dia pós-estro). Como a taxa de prenhez da TE é grandemente influenciada pelas condições e pela preparação de receptoras, somente deverão ser selecionadas como receptoras fêmeas com trato genital livre de infecções, com ciclo estral de duração normal e de boa condição corporal. A TE é realizada principalmente pela via transcervical (VIUFF et al., 1999), tomando-se o cuidado de transferir o embrião o mais próximo possível da junção útero-tubárica do corno uterino ipsilateral ao ovário que contém o CL (REICHEMBACH et al., 2002).

A viabilidade de embriões bovinos produzidos *in vitro* é sabidamente inferior aos obtidos através da técnica de TE (GREVE, 1992; GREVE et al., 1993), provavelmente devido a alterações morfológicas e funcionais provocadas em condições *in vitro* (AVERY; GREVE, 1995).

Segundo Greve et al. (1996) o embrião com viabilidade reduzida pode resultar no aumento da incidência de mortalidade fetal após transferência de embriões produzidos através da FIV. Índices de aborto entre 9 a 47% têm sido relatados no primeiro e segundo trimestre de prenhez de embriões produzidos *in vitro* (DAVIS et al., 1989; REICHENBACH et al., 1992; MASSIP et al., 1995; REINDERS et al., 1995).

Estimativas de morte embrionária tardia de 27 a 42 dias variam entre 10 a 12% (VAN CLEEFF et al., 1992; VASCONCELOS et al., 1997). Kastelic (1996) relata uma perda de aproximadamente 20% em vacas prenhez aos 25 a 42 dias da inseminação. Segundo Boyd et al. (1969), Kastelic (1996) e Vasconcelos et al. (1997) ao redor de 8% de gestações terminam em perda fetal. A interrupção da prenhez após a transferência de embriões bovinos produzidos *in vitro*, frequentemente ocorre antes do dia 21 de gestações (MARKETTEA et al., 1985; FARIN, 1995). Markette et al. (1985) relatam 54,7% de animais gestantes aos 60 dias da transferência. O retorno ao estro de acordo com o dia de gestação foi de 1,5% entre os dias 2 e 16,5 dias da gestação, de 24,4%, entre 17 a 24 dias de gestação, de 2,6% entre 24 a 34 dias de gestação e de 7,5% após 47 dias de gestação.

A incidência de aborto em receptoras que receberam embriões de FIV de acordo com Farine et al. (2001) é relativamente baixa após dois meses de gestação.

King et al. (1985) após transferência de 1776 embriões mencionaram 3,15% e 2,14% de abortos, respectivamente, para 2 a 3 e 3 a 7 meses de gestação. Hasler et al. (1987) relataram 4,7% de abortos entre 2 e 6 meses de gestação. Entre os fatores que levam à mortalidade embrionária ou fetal estão as anormalidades cromossômicas (KING, 1991). Perda embrionária ainda pode ser decorrente de receptoras que não ganham peso (MCCLURE, 1970), dieta com restrição de energia (SPITZER et al., 1978), de receptoras utilizadas mais de uma vez (TANABE et al., 1985), de alterações no perfil endócrino (GUSTAFSSON et al., 1986), de estresse provocado pelo calor (PUTNEY et al., 1988), da assincronia entre o embrião e o útero (ROBERTS et al., 1990) e devido a um corpo lúteo inadequado (HUNTER, 1991). De acordo com Thatcher et al. (1994) aproximadamente 30% das vacas repetidoras de estro apresentam perda embrionária ao dia sete de gestação.

Baxter e Ward (1997) relataram que novilhas primíparas e vacas jovens tendem a ter uma menor perda embrionária do que vacas velhas. Mencionaram ainda que o emprego do ultrassom para o diagnóstico de gestação entre 30 e 40 dias de gestação não aumenta o índice de morte fetal.

O sistema de produção pode afetar o índice de abortos (VAN WAGTENDONK-LEEuw et al., 2000). Esses autores demonstraram que a porcentagem de fetos abortados foi maior em embriões produzidos *in vitro* (2,6%) do que através de TE (1,1%) ou IA (1,3%). Da mesma forma, maior ocorrência de mortalidade perinatal ocorreu na FIV do que na TE e IA. Contudo, afirmam que o baixo número de observações não mostrou grandes diferenças entre os três grupos.

O alto custo de manutenção de fêmeas não gestantes cruzadas *Bos indicus* x *Bos Taurus*, como receptoras de embrião aliada a baixa taxa de aproveitamento, ou seja, percentual de animais aptos a TE em relação ao total de fêmeas tratadas, aumentam o custo de aplicação desta biotecnologia. A melhora da eficiência reprodutiva destes animais é de suma importância para a viabilidade econômica de programas de TE bovinos. Tratamentos hormonais que visem aumentar a taxa de aproveitamento e a taxa de concepção dessas receptoras trarão maior viabilidade à técnica assim como maior rentabilidade pecuária (MELLO, 2003).

4.6 Polímeros Biodegradáveis

O uso dos polímeros é freqüente na sociedade, entretanto, temos como inconveniente a grande quantidade de resíduos deixados na natureza. Entre estes temos: restos de garrafas, sacos plásticos, tubos de encanamento, latas de conserva, tintas, escovas de dente, pára-choques de veículos, pneus. Dentro da agropecuária, a agricultura tem sua contribuição associada às embalagens de sementes, adubo e venenos e na pecuária a maior parte dos resíduos é proveniente dos frascos de medicamentos assim como dos dispositivos hormonais (CHIELLINI et al., 1996; AGNELLI, 2002;).

Plásticos convencionais como o polipropileno, o poliestireno, o polietileno e o policloreto de vinila apresentam taxas pequenas de degradação (CHIELLINI et al., 1996) demorando em média 100 anos para se decompor (HUANG; SHETTY; WANG, 1990; CHIELLINI; SOLARO, 1998). Os polímeros sintéticos convencionais derivados do petróleo são inertes ao ataque imediato de microorganismos causando desta forma um sério impacto ambiental (LUO et al., 2003). Entre as alternativas encontradas para redução do impacto ambiental, causado pelos polímeros convencionais, surgiram os polímeros de origem bacteriana genericamente denominados polihidroxialcanoatos ou PHAS (CHIELLINI; SOLARO, 1998). O biopolímero apresenta degradação resultante da ação de bactérias, fungos e algas de ocorrência natural, sendo desta forma biodegradável (RAGHAVAN, 1995). A degradabilidade dos biopolímeros pode variar, seis meses a um ano e meio, o processo de degradação de compostos biodegradáveis resulta na formação de CO₂, CH₄, H₂O, componentes celulares microbianos e outros produtos (SOUZA; AMARAL; NEVES; FOSECA, 2000).

O inconveniente atual no uso de polímeros biodegradáveis em comparação aos plásticos convencionais é seu alto custo, problema que deve ser resolvido (GOMES; BUENO NETTO, 1997; ROSA; FRANCO, 1999). Polímeros biodegradáveis têm sido amplamente estudados na medicina humana assim como na medicina veterinária, como exemplo na medicina veterinária podemos citar os implantes intravaginais e também os produtos injetáveis (WINZENBURG; SCHMIDT; FUCHS; KISSEL, 2004).

No Brasil a produção de polímeros biodegradáveis é realizada principalmente a partir da cana-de-açúcar, tornando assim o produto mais competitivo no mercado, devido a abundância de matéria prima no país (SOUZA; AMARAL; NEVES; FOSECA, 2000).

4.6.1 Polímeros Biodegradáveis utilizados em implantes intra-vaginais

Rosa et al. (2002) estudaram o poli- ϵ -caprolactona (PCL) como substrato para biodegradação e como matriz em sistemas de liberação de drogas. Este polímero, o PCL, geralmente é preparado pela abertura do anel de polimerização do β -caprolactona (CHANDRA; RUSTGI, 1998).

O processo de produção do poli-hidroxi-butirato (PHB) assim como do PCL é por fermentação bacteriana. O processo de compostagem do PHB e do PCL é utilizado como forma de reciclagem da matéria orgânica possibilitando sua reutilização (DERVAL et al., 2002).

Os produtos de liberação sustentada de progesterona comercializado atualmente são confeccionados em silicone e empregam tecnologia importada. Rathbone et al. (2001) após estudarem vários polímeros observaram que o PCL foi o mais adequado. Estes autores relataram sua excelente característica de biodegradação, facilidade de incorporação a outros ingredientes e da fabricação em diferentes moldes. A interação PCL/progesterona mostrou-se simples de ser moldada e produzida. O implante intravaginal à base de PCL (com 10% de progesterona) apresentou efeito clínico similar ao implante comercial intravaginal CIDR[®] em vacas (RATHBONE et al., 2002).

A perspectiva de viabilidade econômica do PHB a partir da cana de açúcar é promissora, uma vez que o Brasil tem larga experiência em processos de produção biotecnológica nesta área e é o maior produtor mundial de cana de açúcar (ROSA; CHUI; FILHO; AGNELLI, 2002). Há possibilidade da fabricação de um dispositivo intravaginal para bovinos a partir do biopolímero PCL, possuindo uma mesma eficiência quando comparado com o dispositivo à base de silicone CIDR[®] (RATHBONE; BUNT; OGLE; BURGGRAAF; MACMILLAN; PICKERING, 2002).

Recentemente vêm sendo desenvolvidos produtos à base de biopolímeros para esta finalidade. Um destes biopolímeros é o PHB, produzido a partir da fermentação do caldo de cana-de-açúcar por bactérias (CHIELLINI; SOLARO, 1996), sendo o *Bacillus megaterium* a principal bactéria envolvida neste processo (SOUZA; AMARAL; NEVES; FOSECA, 2000). Sabe-se que é possível obterem-se polímeros de diferentes pesos moleculares e que a composição de blendas de polímeros com diferentes propriedades pode ser vantajosa (ROSA et al., 2002).

O PHB se presta à fabricação de diversos materiais como embalagens de alimentos, vasilhames, copos, filmes, dispositivos hormonais, entre outros apresentando desta forma a mesma utilidade que os plásticos convencionais, pois apresenta propriedades mecânicas similares ao polipropileno (ANDERSON; DAWES, 1990). Devido a sua origem natural o PHB tem uma excepcional regularidade estereoquímica, suas cadeias são lineares com interações tipo van der Waals entre os oxigênios da carbonila e os grupos metila e interações por pontes de hidrogênio devido à presença de hidroxilas (LUO et al., 2003).

Um estudo realizado com biopolímeros mostrou que o PHB foi o polímero que mais sofreu a biodegradação, provavelmente por causa de sua estrutura química que pode ser atacada mais facilmente, já o PCL apresentou menor biodegradação.

Como uma solução para a questão do alto custo desses materiais, emerge a necessidade de desenvolvimento de misturas poliméricas biodegradáveis que consistam numa mistura física de dois ou mais tipos de materiais poliméricos ou copolímeros que não são ligados por ligações covalentes. Assim a composição polimérica, além do PHB, deve conter teores variáveis de outro polímero biodegradável, com o PCL (STEVENS, 1999).

Rathbone et al. (2002) ao trabalharem com dispositivo intravaginal a base de PCL em vacas ovariectomizadas da raça Holandesa observaram resultados inferiores aos encontrados com o uso de CIDR[®]. Entretanto, estes autores observaram que a concentração plasmática de P₄ mantinha-se acima de 1ng/mL por 7 dias. Ao modificaram a área superficial e assim como a proporção de P₄ para 5, 10 e 15%, continuaram observando os níveis plasmáticos ainda menores se comparados ao CIDR[®]. Desta forma os autores sugeriam que a P₄ presente no dispositivo de PCL possuía uma taxa diferente de liberação da presente no CIDR[®]. Assim uma possível alternativa fosse aumentar ainda mais a área superficial do novo dispositivo. Desta forma, o dispositivo foi reformulado para nova área

superficial, 10% de P₄ e peso total de 22g o qual apresentou resultados muito semelhantes ao CIDR[®]. Este dispositivo também apresentou taxas de concepção na IATF similares ao CIDR[®] nas vacas Holandesas em reprodução (40,2 vs 35,7%).

Bunt et al. (1999) ao trabalharem com um dispositivo intravaginal fabricado a partir de PCL com 10% de P₄, observaram que os níveis plasmáticos de P₄ foram similares ao CIDR[®], sendo estes entre 2 e 5ng/mL entre o 2º e o 7º dia que os implantes permaneceram nos animais. Estes pesquisadores concluíram ainda que os implantes fabricados a partir de PCL apresentavam flexibilidade adequada para que fossem mantidos no interior da cavidade vaginal.

Rathbone et al. (2002) compararam a liberação *in vivo* entre o CIDR[®] e o dispositivo de PCL em vacas de leite, obtiveram valores para a concentração plasmática máxima de P₄ (5,1ng/mL) em 14,4 horas para CIDR[®] e (5,3ng/mL) em 9,6 horas para dispositivo de PCL. Os níveis de P₄ encontrados na circulação estão sujeitos à metabolização hepática (SANGSRITAVONG, 2002) e a meia vida da P₄ é ao redor de 22 a 36 minutos (MCDONALD, 1983), vacas de leite pelo maior fluxo sanguíneo, causado pela grande produção de leite, apresentam concentrações de P₄ mais baixas (RABIEE et al., 2001). Sávio et al. (1993) observaram que os níveis de P₄ secretados por um CIDR[®], entre 4 a 5 ng/mL, em vacas cuja luteólise havia sido previamente induzida.

Pimentel (2006) utilizou dispositivo intravaginal em seu experimento desenvolvido a partir de biopolímeros como PHB e PCL, a liberação *in vitro* e *in vivo* de P₄ foi estudada comparando os dispositivos DIB[®] e Progestar[®]. Somente nas primeiras 24 horas a liberação foi diferente entre eles (DIB[®] liberou 499mg e o Progestar[®] 377mg) na liberação *in vitro*. Na liberação *in vivo* de P₄ ao dispositivo DIB[®], proporcionou uma concentração plasmática média de 4,06ng/mL e 4,94ng/mL, respectivamente e somente diferiu entre os dispositivos nas 4 primeiras horas após sua inserção (11,45ng/mL) para DIB[®] e (9,23ng/mL) para Progestar[®] e os teores de P₄ se mantiveram sempre maiores do que 1ng/mL durante os 16 dias de ensaio. Apesar das pequenas diferenças encontradas nos ensaios ambos dispositivos foram considerados equivalentes em relação às liberações *in vitro* e *in vivo* de P₄.

MATERIAL E MÉTODO

5 MATERIAL E MÉTODO

5.1 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados generalizados, cujos tratamentos corresponderam a dois protocolos de sincronização do estro para TETF. Os blocos foram formados em função dos escores de condição ovariana e corporal, período pós-parto e categoria animal no dia da inserção do implante de P₄.

5.2 Local e Animais

O experimento foi realizado em parceria com a empresa Embryo-sys[®], a qual foi responsável por realizar a sincronização das doadoras e das receptoras, assim como realizar as inovulações das receptoras, com os embriões FIV, produzidos pelas empresas Invitro[®] e Bioembryo[®]. As sincronizações e as inovulações foram realizadas em três propriedades: Fazenda 1 (Santa Marta), localizada em Paranapanema-SP; Fazenda 2 (Santa Eliza II), localizada em Itapetininga-SP e Fazenda 3 (Fazendas da Mata), localizada em Ouro Fino-MG.

As Fazendas 1 e 2 têm como atividade principal a bovinocultura de corte, utilizando animais da raça Nelore assim como gado elite. A Fazenda 3 é uma central de receptoras, que trabalha com bovinocultura de corte e leite, transferindo embriões das raças Nelore e Girolando. As receptoras utilizadas, neste experimento, eram cruzadas, com variação de meio sangue a três quartos das raças Angus, Simental, Pardo-Suíço e Gir com o Nelore (Figura 1). Todas as fêmeas utilizadas, neste experimento, apresentavam peso superior a 350Kg e foram mantidas sob rigoroso manejo sanitário, sendo ainda, previamente, avaliadas ginecologicamente.

O experimento foi realizado nos meses de fevereiro, março e abril de 2008. O sistema de pastagens, em que os animais se encontravam, era formado por

Brachiaria decumbens, além de receberem suplementação mineral (Sal Reprodução Tortuga[®]) e água *ad libitum*, nas três diferentes propriedades.

As receptoras utilizadas (n=205) foram divididas nas seguintes categorias 1 - novilhas (n=77); 2 - vacas solteiras: (n=69) e 3 - vacas paridas (n=59). As vacas paridas (n=59) também foram divididas em duas classes, segundo período pós-parto: PP1 (n=35), que inclui vacas paridas de 2 a 4 meses e PP2 (n=24), vacas paridas de 4 a 8 meses.

Todos os animais utilizados foram avaliados previamente, em relação ao escore de condição corporal, no momento da sincronização das receptoras, sendo esta feita por avaliação visual e por palpações em áreas específicas, como os processos transversos das vértebras lombares e a fossa perianal, com a finalidade de avaliar os depósitos de gordura nos tecidos e músculos, atribuindo-se pontos de 1 a 9, conforme metodologia de Richards et al. (1986) e condição ovariana verificada por palpação retal (MADUREIRA; PIMENTEL, 2005). A condição ovariana foi classificada como descrito abaixo:

1) Fêmeas ciclando com ovários de comprimento acima de 30mm, macios e presença de CL ou também presença de útero com turgidez acentuada, denotando a presença de folículos grandes estrógeno – ativos ($> 10\text{mm}$).

2) Fêmeas que possuem ovários com comprimento entre 15 - 30mm, ausência de CL e de turgidez no útero. Incluem-se nesta categoria fêmeas cujos folículos atingem a fase de dominância ($\geq 8,5\text{mm}$), mas não ovulam.

3) Fêmeas que possuem ovários pequenos, duros e lisos. Nesta categoria são incluídas fêmeas cujos folículos não chegam até divergência.

Estas avaliações, somadas ao período pós-parto e categoria animal, tiveram como função proporcionar uma divisão eqüitativa dos animais.

Outras variáveis como doadoras (24 doadoras para 155 inovulações), tipo de embrião (blastocisto inicial - BI, blastocisto – BL e blastocisto expandido – BX), classificação de corpos lúteos (0, 1, 2, 3), lotes nas fazendas (3 fazendas – 7 lotes) não tiveram efeitos significativos ($P \leq 0,05$) e foram considerados menos importantes na discussão deste experimento, bem como possíveis interações entre estas e demais variáveis independentes.

Figura 1 – Novilhas e vacas receptoras cruzadas utilizadas neste experimento

5.3 Dispositivos intravaginais e tratamentos

O novo dispositivo intravaginal de bovinos Progestar[®], foi desenvolvido pelo Laboratório de Farmacologia e Endocrinologia da Reprodução (LFER), do departamento de Reprodução Animal (VRA), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia do Estado de São Paulo (FMVZ/USP), sob a responsabilidade do Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira, em conjunto com o Departamento de Engenharia de Materiais (DEMA), da Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR), sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Augusto Marcondes Agnelli. O Progestar[®] (Figura 2), com peso médio de 21,5g, contendo 1,72g de progesterona e área superficial de 197,2cm², foi confeccionado no Núcleo de Reologia e Processamento de Polímeros no DEMA – UFSCAR. A confecção dos novos dispositivos consistiu nas fases de mistura e incorporação de P₄ no PHB, na extrusão da mistura e obtenção dos “pellets” após o que obtiveram-se os dispositivos, pelo processo de injeção, em molde de aço.

O implante Crestar® (Figura 3) contém 3mg de norgestomet dispersos em silicone. Em sua apresentação comercial, inclui-se um frasco contendo 3mg de norgestomet e 5mg de valerato de estradiol, os quais foram substituídos, no presente experimento, pela administração de 2mg de benzoato de estradiol, pela via intra muscular (IM).

Figura 2 – Dispositivo intravaginal Progester®

Figura 3 - Implante subcutâneo Crestar®

As 205 receptoras foram divididas em dois grupos de tratamento: o grupo controle (n=103) foi sincronizado com o implante auricular (Crestar[®], Intervet, Holanda) contendo 3mg de norgestomet e o grupo tratamento(n=102) recebeu o dispositivo intravaginal (Progestar[®], Inovare, Brasil). No início da sincronização (D0) ambos os grupos foram tratados com 2mg de benzoato de estradiol[®], (BE, Inovare, Brasil) intramuscular (IM). Os dispositivos permaneceram nos animais por oito dias. No momento da retirada dos implantes (D8), os animais receberam 400UI de eCG (Novormon[®], Syntex, Argentina) IM e 530µg de cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ouro Fino, Brasil) IM. Após 24 horas da retirada, foi aplicado 1mg de benzoato de estradiol IM como indutor da ovulação. As inovulações foram realizadas no dia 17 do protocolo de sincronização, utilizando o método não cirúrgico, no corno uterino ipsilateral ao ovário portador do corpo lúteo. O esquema experimental está demonstrado na figura 4.

Figura 4 - Esquema experimental

5.4 Variáveis dependentes

A **taxa de aproveitamento** (TA) é obtida dividindo-se o número de receptoras aptas à inovulação, pelo número de receptoras tratadas, multiplicando-se esta razão por 100. Já a **taxa de concepção** (TC) é a relação entre o número de receptoras prenhes e número de receptoras inovuladas (número de embriões transferidos), multiplicado por 100. E a **taxa de prenhez** (TP) é o número de receptoras prenhes em relação ao total de receptoras tratadas, multiplicado por 100. No presente trabalho, três receptoras não foram inovuladas pela falta de embrião e uma por ter sido coberta por touro. Estes quatro animais foram considerados na avaliação da taxa de aproveitamento, mas não nas taxas de concepção e de prenhez (Tabela 3).

Os embriões foram classificados como blastocisto inicial (BI), blastocisto (BL) e blastocisto expandido (BX) e foram armazenados em transportador de embriões da empresa WTA[®] (Watanabe Tecnologia Aplicada), que os manteve a uma temperatura constante de 37°C, durante todo o período do dia de inovulação, tendo obtido o tempo máximo de armazenamento de 14 horas, desde a retirada dos embriões das empresas até a última inovulação de cada dia (Figura 5).

Figura 5 – Transportador de embriões da empresa WTA[®] (Watanabe Tecnologia Aplicada)

O diagnóstico foi realizado por ultrassonografia após 30 dias da inovulações, utilizando-se o aparelho SSD-500 (Aloka Ultrasound Diagnostic Equipment).

5.5 Análise Estatística

A TA, TC e TP foram analisadas segundo: tratamento, condição corporal, categoria animal e condição ovariana. Na análise dos dados não foi encontrado efeito para lotes e fazendas, assim como do tipo de embrião inovulado. Para efeito das análises, a categoria animal foi dividida em novilhas, vacas paridas e vacas solteiras. Os animais, como relatado anteriormente, apresentavam boa condição corporal, logo os escores utilizados foram os de 4, 5 e 6.

Desta forma TA, TC e TP foram analisadas, empregando-se o PROC GLM do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, Institute Inc., 1985). Assim as variáveis independentes: tratamento, CC, categoria animal, CO como as interações entre elas, foram inseridas no modelo estatístico. O nível de significância considerado para todos os testes foi 5%.

Demonstrada na tabela referente às causas de variação e graus de liberdade da análise de variância das TA, TC e TP (Tabela 1).

A categoria vacas paridas foi dividida em duas classes segundo o período pós parto: vacas entre dois e quatro meses de paridas formaram o grupo 1, ou seja PP1, e vacas entre quatro e oito meses de paridas formaram o grupo dois, PP2. A TA, TC e TP foram analisadas, apenas dentro de vacas paridas. Desta forma TA, TC e TP na categoria vacas paridas foram analisadas, empregando-se o PROC GLM do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, Institute Inc., 1985), no qual as variáveis independentes foram: tratamento, CC, PP, CO e as interações entre elas. O nível de significância considerado para todos os testes foi 5%.

Demonstrada na tabela referentes às causas de variação e graus de liberdade da análise de variância das TA, TC e TP (Tabela 2).

Tabela 1 - Causas de variação para taxas de aproveitamento (TA), concepção (TC) e de prenhez (TP)

		TA		TC		TP	
Causas de Variação		Graus de Liberdade					
Tratamento		1		1		1	
Bloco		39		39		39	
	CC		[2]		[2]		[2]
	CO		[1]		[1]		[1]
	Categoria		[2]		[2]		[2]
	Doadora		[23]		[23]		[23]
	Corpo luteo		[3]		[3]		[3]
	Embrião		[2]		[2]		[2]
	Lote		[6]		[6]		[6]
Tratamento x Bloco		39		39		39	
	Tratamento x CC		[2]		[2]		[2]
	Tratamento x CO		[1]		[1]		[1]
	Tratamento x Categoria		[2]		[2]		[2]
	Tratamento x Doadora		[23]		[23]		[23]
	Tratamento x Corpo luteo		[3]		[3]		[3]
	Tratamento x Embrião		[2]		[2]		[2]
	Tratamento x Lote		[6]		[6]		[6]
Resíduo		125		75		121	
Total		204		154		200	

Tabela 2 - Causas de variação para taxas de aproveitamento (TA), concepção (TC) e de prenhez (TP) em vacas paridas

		TO		TC		TP	
Causas de Variação		Graus de Liberdade					
Tratamento		1		1		1	
Bloco		4		4		4	
	CC		[2]		[2]		[2]
	CO		[1]		[1]		[1]
	pós-parto		[1]		[1]		[1]
Tratamento x Bloco		7		7		7	
	Tratamento x CC		[2]		[2]		[2]
	Tratamento x CO		[1]		[1]		[1]
	Tratamento x pós-parto		[1]		[1]		[1]
	CC x pós-parto		[2]		[2]		[2]
	CO x pósparto		[1]		[1]		[1]
Resíduo		46		37		45	
Total		58		49		57	

RESULTADOS

6 RESULTADOS

As taxas de aproveitamento, concepção e de prenhez não foram significativamente influenciadas pelas interações estudadas (Tabela 3), de modo que os efeitos de tratamento, CC, CO e categoria animal são apresentados de maneira independente.

Tratamento, CC, CO e categoria animal não afetaram significativamente nenhuma das três taxas estudadas e os resultados são descritos a seguir.

A média geral da **taxa de aproveitamento** (TA) foi de 78,0%, sendo 72,8% para Crestar[®] e 83,3% para Progestar[®]. A **taxa de concepção** (TC) também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos Crestar[®] e Progestar[®] (47,9% vs 42,7%, respectivamente), e a média geral de concepção foi de 45,2%. A média da **taxa de prenhez** (TP) foi de 34,8%, e também não apresentou diferença significativa entre os tratamentos Crestar[®] (34,7%) e Progestar[®] (35,0%). Estes resultados estão agrupados na tabela 3 e demonstrados no gráfico 1.

As taxas avaliadas, segundo escore de condição corporal, foram de: 1) TA - 63,6% para animais com CC 4, 85,7% para CC 5 e de 77,7% para CC 6; 2) TC - 42,9% para animais com CC 4, 58,3% para CC 5 e de 42,7% para CC 6 e 3) TP - 27,3% para animais com CC 4, 50,0% para CC 5 e 32,7% para CC 6 (Tabela 3).

Os resultados das taxas, segundo escore de condição ovariana foram: 1) TA - animais ciclando, 79,6% e não ciclando, 73,6%; 2) TC – animais ciclando, 46,2% e não ciclando, 42,1% e 3) TP - animais ciclando, 36,2% e não ciclando, 30,8% (Tabela 3).

A TA apresentou valores de 67,5%, 82,6% e 86,4% para novilhas, vacas solteiras e vacas paridas, respectivamente. Na TC os resultados foram de 45,1%, 46,3% e 44,0%, respectivamente, para as mesmas categorias. E para TP os resultados foram de 38,6%, 40,1% e 36,9%, respectivamente, para as mesmas categorias de animal (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxas de Aproveitamento (TA), concepção (TC) e prenhez (TP) segundo tratamento, escores de condição corporal (CC), e ovariano (CO) e categoria animal

		n=	TA%	P=	n=	TC%	P=	n=20	TP%	P=
Tratamento	Crestar®	103	72,8	0,57	73	47,9	0,25	101	34,7	0,42
	Progestar®	102	83,3		82	42,7		100	35,0	
CC	4	11	63,6	0,37	7	42,9	0,14	11	27,3	0,09
	5	28	85,7		24	58,3		28	50,0	
	6	166	77,7		124	42,7		162	32,7	
CO	1	152	79,6	0,89	117	46,2	0,88	149	36,2	0,81
	2	53	73,6		38	42,1		52	30,7	
Categoria	Novilhas	77	67,5	0,08	51	45,1	0,56	77	38,6	0,28
	Vacas Solteiras	69	82,6		54	46,3		66	40,1	
	Vacas Paridas	59	86,4		50	44,0		58	36,9	
Média		-	78,04	-	-	45,2	-	-	34,8	-
Interações										
Tratamento x CC		-	-	0,53	-	-	0,2	-	-	0,36
Tratamento X CO		-	-	0,58	-	-	0,90	-	-	0,88
Tratamento x Categoria		-	-	0,11	-	-	0,21	-	-	0,18
CC x Categoria		-	-	0,36	-	-	0,46	-	-	0,17
CO x Categoria		-	-	0,97	-	-	0,54	-	-	0,52

As médias ou proporções nas colunas com letras sobrescritas apresentam diferença estatística (a,b P≤0,05)

Taxa aproveitamento (TA) = (nº de receptoras inovuladas ÷ total de receptoras tratadas) x 100

Taxa de concepção (TC) = (nº de receptoras prenhes ÷ nº de receptoras inovuladas) x 100

Taxa de prenhez (TP) = (nº de receptoras prenhes ÷ total de receptoras tratadas) x 100.

Gráfico 1 - Taxas de aproveitamento (TA), concepção (TC) e prenhez (TP) segundo tratamento

6.1 Receptoras Vacas Paridas

Dentro da categoria das vacas paridas, foram reconhecidas, à priori, 2 classes de período pós parto (PP1- 2 a 4 meses com $n=35$ e PP2- 4 a 8 meses com $n=24$), para possibilitar uma divisão equitativa dos lotes (Tabela 4).

Embora para as TA, TC e TP, não tenha ocorrido interação entre tratamento e categoria, categoria e CC, categoria e CO, optou-se por analisá-las, separadamente, dentro da categoria de vacas paridas.

As interações entre PP e tratamento, PP e CC não influenciaram significativamente, nenhuma das três taxas estudadas. Da mesma forma, TC e TP não sofreram influência significativa da interação entre PP e CO. Entretanto, TA foi significativamente influenciada pela interação entre PP e CO.

Na tabela 4 são apresentadas as TA, segundo a interação entre PP e CO e também as TA, TC e TP, segundo os efeitos principais, quais sejam, tratamento, CC, PP e CO.

Analisando-se mais detalhadamente o efeito da interação entre PP e CO para a variável TA, nota-se que, no PP 1, as vacas não-ciclando apresentaram 100% de aproveitamento, enquanto as que estavam ciclando apresentaram aproveitamento de 90,0% ($P>0,05$). No PP 2, os valores, significativamente diferentes ($P<0,05$),

foram de 83,3% para as que estavam ciclando e 50% para as que não estavam ciclando. (Tabela 4 e gráfico 2).

No que diz respeito aos efeitos independentes e não significativos das variáveis tratamento e CC. Sobre a TA, pode-se verificar que para as vacas paridas, tratadas por Crestar[®], a TA foi de 85,1%, enquanto para as tratadas por Progestar[®], foi de 87,5%. As vacas paridas apresentaram valores de 66,7%, 86,7% e 91,4%, para CC 4, 5 e 6, respectivamente.

A TC para as vacas paridas tratadas por Crestar[®] foi de 39,1% enquanto para as tratadas por Progestar[®] foi de 48,1%. As vacas paridas apresentaram valores de 61,5%, 33,3% e 38,7%, para CC 4, 5 e 6, respectivamente. Houve efeito de período pós-parto: animais no PP1 apresentaram 48,5% de TC, já as vacas no PP2, 35,3% ($P < 0,05$) (Gráfico 3). Os valores de TC segundo escore de condição ovariana, foram: CO 1 – 43,8% e CO 2 – 44,4%, apresentados na tabela 4.

A TP para as vacas paridas tratadas por Crestar[®] foi de 33,3% enquanto para as tratadas por Progestar[®] foi de 41,9%. As vacas paridas apresentaram valores de 22,2%, 53,3% e 35,2%, para CC 4, 5 e 6, respectivamente Assim como para TC, houve efeito de PP: vacas no PP1 tiveram 45,7% de prenhez, enquanto as que estavam no PP2, 26,4% ($P < 0,05$) (Gráfico 3). Os valores de TP segundo escore de condição ovariana, foram: CO 1 – 37,8% e CO 2 – 38,0%, apresentados na tabela 4.

Tabela 4 - Taxas de aproveitamento (TA), concepção (TC) e prenhez (TP) das vacas paridas, segundo tratamento, escore de condição corporal, escore de condição ovariana, período pós-parto e interações

Efeitos Principais										
		n	TA%	P=	n	TC%	P=	n	TP%	P=
Tratamento	Crestar®	27	85,1	0,56	23	39,1	0,63	27	33,3	0,56
	Progestar®	32	87,5		27	48,1		31	41,9	
CC	4	9	66,7	0,85	6	33,3	0,42	9	22,2	0,33
	5	15	86,7		13	61,5		15	53,3	
	6	35	91,4		31	38,7		34	35,2	
Pós parto (PP)	1	35	94,3	0,21	33	48,5 a	0,05	35	45,7 a	0,02
	2	24	75,0		17	35,3 b		23	26,0 b	
CO	1	38	86,8	0,32	32	43,8	0,70	37	37,8	0,56
	2	21	85,7		18	44,4		21	38,0	
Interações										
		n	TA%	P=	n	TC%	P=	n	TP%	P=
P. Pós parto 1	CO 1	20	90,0	-	-	-	-	-	-	-
2 a 4 meses	CO 2	15	100,0	-	-	-	-	-	-	-
P. Pós parto 2	CO 1	18	83,3 a	-	-	-	-	-	-	-
4 a 8 meses	CO 2	6	50,0 b	-	-	-	-	-	-	-
Interações										
Tratamento x CC		-	-	0,35	-	-	0,95	-	-	0,84
Tratamento x CO		-	-	0,23	-	-	0,82	-	-	0,52
Tratamento x PP		-	-	0,42	-	-	0,13	-	-	0,22
CC x PP		-	-	0,82	-	-	0,27	-	-	0,38
CO x PP		-	-	0,05	-	-	0,31	-	-	0,11

As médias ou proporções nas colunas com letras sobrescritas apresentam diferença estatística (a,b $P \leq 0,05$).

Gráfico 2 - Taxa de aproveitamento (TA) de vacas paridas divididas em duas classes de períodos pós-parto: categoria paridas PP 1 (vacas paridas de 2 a 4 meses) e categoria vacas paridas PP 2 (vacas paridas de 4 a 8 meses), segundo escore de condição ovariana

Gráfico 3 - Taxas de concepção (TC) e de prenhez (TP) das vacas paridas segundo período pós-parto (PP)

7 DISCUSSÃO

Segundo Spell et al. (2001) e Hasler (2001), inúmeros fatores interferem na eficiência de programas de TE, com destaque especial às receptoras, por serem fator determinante no sucesso desta biotecnologia. Isto porque os programas de TE comerciais apresentam, em geral, baixas taxas de aproveitamento. Assim, neste experimento, houve a preocupação de selecionar e utilizar receptoras homogêneas e de melhores condições nutricionais e reprodutivas.

Bó et al. (2002) relataram que em um lote de receptoras, tratadas com protocolos tradicionais, com observação de estro, somente 40 a 50% dos animais são aproveitados para a inovulação. Considerando-se uma taxa de concepção de 50% do total de animais aproveitados, obtém-se apenas 20 a 25% de gestações ao final do tratamento. Os resultados do atual experimento superaram os verificados por Bó et al. (2002), demonstrando boa eficácia do novo dispositivo Progestar® em programas de transferência de embriões.

A seguir, os resultados serão discutidos separadamente por taxa de aproveitamento, de concepção e de prenhez, finalizando com um tópico de efeito de período pós-parto sobre as mesmas variáveis.

7.1 Taxa de aproveitamento

A TA reflete basicamente a porcentagem de vacas que ovularam em decorrência do tratamento, uma vez que as receptoras são examinadas por palpação retal ou ultra-sonografia, no dia da TETF, para detecção do CL.

Comparando com trabalhos de Pursley et al. (1995), Wiltbank (1997), Martinez (1999), Barros (2000), Bó et al. (2002), Reis (2004), os resultados de TA do presente experimento (78,0%) podem ser considerados acima da média para a sincronização de receptoras cruzadas (*Bos taurus* x *Bos indicus*) em TETF, onde relataram TA de 50,0% aproximadamente. Tribulo et al. (2000) demonstram que as taxas de aproveitamento são maiores em receptoras submetidas a protocolos de

TETF do que naquelas tratadas com uma ou mais aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e posterior detecção do estro.

Quando utilizados dispositivos à base de progesterona, ou progestágenos, foram achados resultados, como o de Moura (2001), que comparou a taxa de aproveitamento, em receptoras mestiças *Bos taurus* x *Bos indicus*, inovuladas em tempo fixo, empregando-se Crestar[®]+BE ou CIDR[®]+BE, obtendo-se para o primeiro grupo aproveitamento de 66,6% vs 61,8%, para o segundo tratamento. Estes resultados, embora dentro dos esperados, foram inferiores aos do presente experimento. Esta superioridade de resultados, no presente experimento, pode ser explicada, entre outros fatores, pela administração de eCG em todos os animais. Mantovani (2003) obteve taxas de aproveitamento de 51,4%, quando utilizou protocolo com CIDR[®], por 8 dias sem o uso de eCG, em receptoras de embriões, de maneira semelhante à utilizada por Moura (2001). Rodrigues et al. (2004) compararam a eficácia do tratamento com progesterona (P_4), ou Norgestomet (NOR), associado a Valerato de Estradiol (VE), ou a Benzoato de Estradiol (BE), no protocolo para inovulação em tempo fixo. Utilizaram os dispositivos Crestar[®] e CIDR[®] e não observaram diferenças entre os tratamentos, como também não foi encontrada diferença entre Crestar[®] e Progestar[®] no presente experimento.

Na utilização da ECG, em protocolos de sincronização, Cavaliere et al. (1997) registraram que a aplicação da eCG provocou um ligeiro incremento na sincronização da ovulação após tratamentos com Crestar[®]. Neste contexto, Reis (2004) utilizou protocolo com dispositivo intravaginal CIDR[®], associado a 2mg de benzoato de estradiol (BE) e 50 mg de P_4 , no dia 0, $\text{PGF}_{2\alpha}$ e eCG (dias 5 ou 8), 1mg de BE, no dia 9 e inovulação no dia 17. O autor encontrou que as receptoras tratadas com eCG, no dia 5, apresentavam maior taxa de aproveitamento que as tratadas no dia 8 (87,0% vs. 81,7%, respectivamente). Isto porque a eCG, no início da onda de crescimento folicular, do dia 5, fez com que mais de um folículos crescesse sob a estimulação de FSH e de LH, uma vez que a eCG permanece na corrente sanguínea por até 120 horas e se liga aos receptores foliculares de FSH e LH (MURPHY; MARTINUK, 1991).

No presente trabalho, utilizou-se eCG no dia 8, devido ao manejo das propriedades, pois a aplicação da ECG, no dia 5, implicaria prender os animais mais um dia no tronco, aumentando a mão de obra e o manejo com os animais. Entretanto, os resultados do presente experimento foram semelhantes aos do

trabalho de Reis (2004), devido aos animais apresentarem bons escores de condição corporal (94,5% CC 5 e 6) e ovariano (74,7% ciclando).

7.2 Taxa de concepção

Comparando os resultados de TC, do presente estudo (45,4%), com os dos trabalhos de Barros (2000), Wiltbank (1997), Bó et al. (2002), Pursley et al. (1995) e Martinez (1999) apud Reis (2004), podem-se considerar os mesmos acima da média relatada por estes autores (40% aproximadamente) cujos protocolos exigiram a observam de cio.

A fim de aumentar as taxas de concepção, reduzindo as falhas na detecção de estro, Baruselli et al. (2003), compararam o protocolo Ovsynch com a prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) para a sincronização de receptoras de embrião, também na região de Itapetininga-SP. Os seguintes resultados foram obtidos: Ovsynch - 49,2% vs $\text{PGF}_{2\alpha}$ - 56,3%. No presente experimento, verificou-se TC de 45,2%, semelhante à da Ovsynch, mas menor que a atingida com emprego de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Na utilização de protocolos com progesterona ou progestágenos, Moura (2001) obteve taxa de concepção de 38,6%, para o grupo Crestar[®]+BE e de 50% para o grupo CIDR[®]+BE. Estes resultados também se assemelham aos encontrados no presente experimento, tanto para o protocolo no qual se utilizou progestágeno, quanto no qual se utilizou progesterona.

Já Baruselli et al. (2000) testaram aumentar o número de corpos lúteos e as concentrações de P_4 , de modo a elevar as taxas de concepção e de prenhez em receptoras de embrião. Para isso, realizaram um experimento que envolveu dois grupos de receptoras de embriões bovinos. O Grupo 1 recebeu implante de 1,9g de progesterona (CIDR-B[®]), além da aplicação via intramuscular (IM) de 2mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]) e de 50 mg de progesterona no dia 0; no dia 7 pela manhã os animais receberam 500µg de cloprostenol sódico (Ciosin[®]), também via IM e, à tarde, os implantes foram retirados; no dia 8 pela manhã administrou-se 0,5 mg de BE, via IM. O mesmo protocolo foi adotado para os animais do Grupo 2, entretanto, estes também receberam no dia 5 pela manhã, 800UI de eCG (Novormon[®]), via IM. O Grupo 2 apresentou maior percentual de animais inovulados

e taxa de concepção de 52,6%, maior que a do Grupo 1 que foi de 29,45%. Com base em tais resultados, os autores concluíram que o tratamento com eCG induziu a formação de maior número de corpos lúteos, aumentando as taxas de concepção e, de prenhez em relação ao grupo controle.

Em outro estudo, no qual se utilizou eCG (REIS, 2004), foram comparados os efeitos de eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$, administrados nos dias 5 e 8, sobre as taxas de concepção. Obteve-se taxa de concepção de 51,8%, quando eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ foram aplicados no dia 5 e 45,0% quando eCG e $\text{PGF}_{2\alpha}$ foram aplicados no dia 8, o que se assemelha aos resultados do presente trabalho, no qual utilizou-se o novo dispositivo de biopolímero Progestar®. Segundo Reis (2004), elevadas concentrações de P_4 durante o diestro, aumentam a P_4 do ciclo subsequente à ovulação, levando à redução do diâmetro do folículo dominante da segunda onda de crescimento, em virtude da diminuição da frequência dos pulsos de liberação de LH, atrasando o mecanismo da luteólise e proporcionando mais dias de crescimento ao conceito, culminando em maiores taxas de concepção com a aplicação de eCG no dia 5 (ADAMS; MATTERI; GINTHER, 1992; BERGEFELT; KASTELIC; GINTER, 1991; FIKE et al., 2004; NETT et al., 2002; SANCHEZ et al., 1995).

No presente trabalho, todos animais receberam eCG, e desta forma, diferenças nas taxas entre animais, segundo escores de condição corporal e ovariano não foram observadas para estas categorias de receptoras. Em casos de má condição nutricional, os folículos necessitam de um suporte gonadotrófico extra (BO, 2001). Nesses casos, estímulo de gonadotrofina na dose de 400 a 800 UI de eCG, parece ser efetivo no incremento da concepção (ROCHE et al., 1992). Em novilhas acíclicas, a eCG tem ação benéfica no desenvolvimento folicular (TIBARY et al., 1992).

7.3 Taxa de prenhez

Taxas médias de prenhez de 20 a 25% têm sido relatadas para receptoras de embrião (Barros, 2000; Wiltbank, 1997; Bó et al., 2002; Pursley et al., 1995; Martinez, 1999 apud Reis, 2004). Os resultados de TP (média de 34,8%) do

presente experimento, podem ser considerados acima da média para a sincronização de receptoras *Bos taurus* x *Bos indicus* para TETF.

Novamente, quando se comparam as taxas obtidas por Baruselli et al. 2003, verifica-se que a taxa de prenhez, do presente trabalho, esteve semelhante no protocolo Ovsynch (35,7%) e superior quando aplicado somente PGF_{2α} (25,4%).

Moura (2001) obteve taxa de prenhez de 25,7%, 30,9%, para os tratamentos Crestar®+BE e CIDR®+BE, respectivamente. Mantovani (2003) obteve taxa de prenhez de 30,0%, quando utilizou protocolo com CIDR®, por 8, dias sem o uso de eCG. No presente trabalho tiveram-se taxa de prenhez de 34,7% vs 35,0% para Crestar® e Progestar®, respectivamente, sendo estas superiores às registradas por Moura (2001) e Mantovani (2003).

No entanto, Rajamahendran e Taylor (1991) observaram alguns efeitos negativos do norgestomet sobre o útero, causando redução das taxas de prenhez. Esta afirmação não pode ser confirmada no presente trabalho, no qual o uso do Crestar® não apresentou resultados diferentes nas taxas avaliadas.

Reis (2004) obtiveram taxa de prenhez de 44,1%, quando eCG e PGF_{2α} foram aplicadas no dia 5 e 36,6%, quando eCG e PGF_{2α} foram aplicadas no dia 8, o que se assemelha muito aos resultados do presente trabalho, no qual utilizou-se o novo dispositivo de biopolímero Progestar®. Reis (2004) justifica que o uso de eCG promove aumento de P₄ no diestro, o que estimula uma maior secreção de nutrientes pelo endométrio uterino, melhorando o desenvolvimento embrionário, aumentando a produção de interferon-tau pelo concepto e bloqueando a luteólise de maneira mais eficiente (GEISEET et al., 1992; KERBLER et al., 1997; MABB; LAMMING, 2001; WATHES et al., 1998).

Rathbone et al. (2002) encontraram resultados na liberação *in vivo* de P₄ em vacas de leite, de valores e tempos para a concentração plasmática máxima de P₄, respectivamente, de 5,1ng/mL e 14,4 horas para o CIDR® e 5,3ng/mL e 9,6 horas para um dispositivo de PCL). Pimentel (2006) utilizou dispositivo de biopolímero (Progestar®) em comparação ao DIB®, em fêmeas zebuínas ovariectomizadas, no ensaio de liberação *in vivo* de P₄, proporcionando concentração plasmática média de 4,94ng/mL para o DIB® e 4,06ng/mL para o Progestar®. Apesar das pequenas diferenças encontradas nos ensaios, entre ambos dispositivos, não foi demonstrada diferença em relação às liberações de P₄ *in vivo*.

Pelo fato de ainda não existirem experimentos com o novo dispositivo Progestar[®], comparando as taxas de ovulação, de concepção e de prenhez, o atual trabalho atingiu resultados semelhantes aos que utilizaram CIDR[®] ou DIB[®].

Recentemente, em búfalas, na estação reprodutiva desfavorável, Carvalho et al. (2007) realizaram um trabalho com o novo dispositivo intravaginal Progestar[®], comparado ao DIB[®], com protocolos de 8 e 9 dias. Para o protocolo de 8, dias os resultados de taxa de ovulação foram: 45,4% para DIB[®] e 66,7% para Progestar[®], enquanto que, para o protocolo de 9 dias, os resultados foram: 66,7% para DIB[®] e 75,0% para Progestar[®]. Não houve diferença nos resultados entre os dois dispositivos.

7.4 Receptoras Vacas Paridas

No Brasil, nos últimos anos, tem sido crescente o emprego de vacas paridas como receptoras de embrião. Dada a importância que este procedimento tem atualmente, optou-se por analisar as TA, TC e TP dentro da categoria de vacas paridas, mesmo não tendo ocorrido interação entre categoria e tratamento, categoria e CC e categoria e CO (Tabela 3)

Embora não fosse objetivo deste trabalho verificar as influências da condição corporal e do período pós-parto sobre as variáveis analisadas, tanto a CC quanto o PP foram introduzidos no experimento de maneira prospectiva e encontraram-se efeitos das mesmas. Por mais homogêneo que seja o grupo de animais a ser distribuído entre os tratamentos, sempre haverá diferenças de condição corporal e períodos pós-parto entre as vacas.

A atribuição de escores de condição corporal (CC) é uma ferramenta de manejo, que pode ser utilizada para monitorar a mobilização de tecido adiposo, e embora pareça bastante subjetiva, à primeira vista (FERREIRA et al., 1997), é o melhor sistema para avaliação do estado nutricional dos bovinos (SHORT et al., 1990). Entretanto, animais em CC semelhantes e num período pós-parto próximo, podem apresentar diferentes graus de mobilização energética (GRIMARD et al., 1997), caracterizada pela concentração de ácidos graxos não esterificados. Grimard et al. (1997) observaram que animais prenhes, após tratamento com Crestar[®],

apresentaram níveis significativamente inferiores de ácidos graxos não esterificados do que aqueles que não emprenharam, concluindo que as prenhes haviam re-equilibrado seu balanço energético. Portanto, embora importante, boa condição corporal, dos animais no momento dos tratamentos, pode não ser suficiente para garantir bons resultados.

Dentro da categoria vacas paridas, a TA não foi afetada por tratamento. Tanto Crestar[®] quanto Progestar[®] proporcionaram boas TA (85,1% e 87,5%, respectivamente).

Entretanto, no presente estudo, houve interação entre PP e CO para a TA. Segundo esta interação, vacas no PP1, que estavam ou não ciclando, apresentaram TA de 90% e 100%, respectivamente (Tabela 4 e Gráfico 2).

Geralmente vacas com período pós-parto maior apresentam menor mobilização de lipídios, e também maior taxa de ciclicidade (HUMBLLOT et al. 1996; GRIMAND et al. 1995).

Entretanto, as vacas no PP2, no presente estudo, que estavam ciclando, atingiram TA de 83,3% e as que não estavam ciclando, 50,0% (Gráfico 2).

O fato de uma vaca não estar ciclando no PP1 parece não interferir com a TA o que equivale afirmar, em outras palavras que o anestro, nesta fase do período pós-parto não impede que vacas paridas respondam, com altas taxas de ovulação nos protocolos de TETF, com emprego de progesterona ou progestágenos.

Por outro lado, no PP2 a ciclicidade influencia significativamente a TA. No PP2, encontravam-se as vacas paridas há mais de 4 meses, quando seria esperado que já estivessem ciclando. O fato de não estarem ciclando é um indicativo de que algo fugiu ao controle metabólico do animal. Pode-se argumentar que estas vacas continuaram a metabolizar lipídios, devido à amamentação, uma vez que, com o crescimento acelerado do bezerro aumenta sua demanda por leite. Além disto, vacas amamentando, se estiverem perdendo condição corporal, são mais sensíveis ao “feed-back” negativo do estradiol no eixo hipotalâmico hipofisário, o que atrasa o reinício da ciclicidade. Por este ângulo, é de se esperar uma menor TA, em vacas que não estão ciclando, a despeito de já estarem com pelo menos 4 meses de paridas.

Vale registrar, que estes dados devem ser vistos com cautela, pois houve apenas 6 vacas não ciclando no PP2. A observação de uma interação tripla entre

PP, CO e CC poderia ser de grande valia na análise deste resultado, o que não foi possível devido ao pequeno número de animais.

O efeito dos progestágenos e da P_4 na recuperação do anestro pós-parto parece estar ligado ao aumento da liberação basal de LH. Trabalhando com vacas lactantes ovariectomizadas, Van Cleeff et al. (1992) observaram aumento da liberação média de LH com a colocação de um CIDR[®] novo ou reutilizado. Garcia Winder et al. (1986), comparando as concentrações plasmáticas médias de LH, de vacas em anestro pós-parto, tratadas ou não com norgestomet, verificaram aumento das mesmas quando os animais foram submetidos ao tratamento com progestágeno. Thompson et al. (1999) observaram, que vacas em anestro implantadas com norgestomet, apresentaram maiores concentrações de estradiol, após a remoção dos implantes do que animais não tratados, concluindo que o progestágeno favoreceu o desenvolvimento folicular, levando à presença de folículos maiores.

Cutaia et al. (2001) registraram que, em algumas situações, os dispositivos usados, com menor liberação de progesterona, podem apresentar vantagens sobre aqueles que liberam maior quantidade desse hormônio, aumentando as taxas de prenhez à IATF. Vilela et al. (2003) observaram que após tratamento com o CIDR[®], por 7 dias, os animais em anestro apresentaram maior crescimento folicular do que animais cíclicos, o que pode ser um sinal de que maiores concentrações plasmáticas de P_4 podem influenciar negativamente o crescimento folicular.

Como pode ser observado na tabela 4 a TA foi significativamente influenciada pela interação entre PP e CO. Por outro lado, tanto a TC quanto a TP foram influenciadas por período pós-parto.

A TC foi maior ($P=0,05$) para vacas no PP1 (48,5%) do que para as do PP2 (35,3%). O mesmo ocorreu com a TP, vacas no PP1 apresentaram uma TP de 45,7% enquanto que as de PP2, 26,0%. A TP é função direta da TA e da TC, podendo, inclusive, ser obtida pelo produto da multiplicação de TA x TC. Portanto, a TP expressa o efeito ocorrido da TA e da TC. No caso específico do presente estudo, a TA já foi numericamente inferior para as vacas do PP2, sendo influenciada negativamente pelas vacas não ciclando da PP2, conforme a interpretação da interação entre PP e CO. A TC acompanhou a mesma tendência da TA e, como era de se esperar, a TP foi influenciada pelo PP de maneira mais contundente.

Há que se considerar, mesmo que pareça paradoxal, a conveniência de se transferirem embriões em receptoras paridas, num período pós-parto mais precoce, em detrimento das paridas há mais tempo. Os resultados do presente estudo fornecem subsídios para afirmar que, vacas paridas entre 2 a 4 meses, tratadas com progesterona ou progestágenos, associados à eCG, podem responder bem aos protocolos de sincronização da ovulação e por isso apresentam elevadas TA e ainda formam corpos lúteos competentes, ao ponto de proporcionarem elevadas TC, independente de estarem ou não ciclando. A TP, significativamente superior, para esta categoria, é mera consequência do efeito acumulado das duas variáveis que a influenciaram.

A CC não influenciou significativamente nenhuma das taxas estudadas (Tabela 4)

Segundo Mihm (1999), vacas com $CC < 5$ apresentam desempenho reprodutivo semelhante, porém superior às que estão com $CC \leq 4$. No presente estudo, a CC foi utilizada como fator de restrição, para possibilitar uma divisão equitativa dos grupos, mas por terem sido reconhecidas à priori, foi incluída no modelo estatístico, como uma das fontes de variação. De qualquer maneira, devido ao pequeno número de animais, principalmente com CC4, não se podem tecer comentários conclusivos à respeito de CC, sobre o desempenho reprodutivo de vacas paridas, utilizadas como receptoras de embrião, após terem sido tratadas por progesterona ou progestagenos, associados à eCG.

Animais com condição corporal superior apresentam maior probabilidade de estar ciclando (CAVALIERI; FITZPATRICK, 1995). Efeitos positivos da condição de escore corporal na resposta à sincronização podem ser obtidas em grande número na literatura. Ferreira et al. (1997) observaram relação inversa entre escore de condição corporal e período pós-parto em vacas primíparas Indubrasil. A presença do bezerro pode prejudicar o desempenho de vacas paridas uma vez que o bezerro conforme vai crescendo e aumentando seu consumo do leite faz com que a vaca perca condição corporal. A condição corporal é um fator significativo no desempenho de vacas primíparas (HUMBLOT et al., 1996), pois necessitam de energia para continuar crescendo neste período.

Segundo Fernandes (2006), os animais com melhor CC apresentam concentrações de P_4 superiores. A concentração de P_4 plasmática demonstra uma ligação importante entre balanço energético negativo (BEN) e a fertilidade. Os teores

de P_4 aumentam durante os primeiros dois ou três ciclos ovulatórios do período pós-parto; entretanto, este aumento pode ser limitado pelo BEN no período pós-parto (SPICER, 1990; STAPLESN, 1990; VILLA-GODOY et al., 1988). Villa-Godoy et al. (1988) demonstraram, em vacas leiteiras, que quanto maior o BEN, nos primeiros nove dias pós-parto, menor a concentração plasmática de P_4 nos primeiros três ciclos estrais.

MURPHY et al. (1990) e CROWE et al. (1993) relatam que vacas de corte em boa condição corporal possuem um intervalo parto-primeira ovulação entre 27 a 37 dias pós parto. Vacas de corte com condição corporal ruim costumam ovular entre 60 a 120 dias pós parto (STAGG et al. 1995). ROCHE et al. (1992) concluíram que a administração de ECG, após tratamento com progestágenos, em vacas de corte amamentando, com baixa condição nutricional e com período pós parto menor que 60 dias, aumentou a porcentagem de vacas que entram em estro.

Humblot et al. (1996) verificaram que o período pós-parto foi importante fator que influenciou os resultados da sincronização do estro com Crestar[®] + eCG. Beal et al. (1984) verificaram melhores taxas de prenhez à sincronização, em fêmeas com maior período pós-parto, fato associado diretamente ao aumento da proporção de fêmeas ciclando com o passar do tempo da parição. Há, contudo, trabalhos nos quais não é possível verificar efeito do período pós-parto após o tratamento de sincronização da ovulação (BRIDGES et al., 1999; BARUFI et al., 2002; PURSLEY et al., 1997), mas é preciso atentar que as diferentes classes de períodos pós-parto podem não estar caracterizando diferentes estágios de ciclicidade, ou ainda que o número de animais seja insuficiente para que se observem diferenças nas taxas de concepção e de prenhez em cada uma das classes.

7.5 Outras variáveis independentes

A fase do desenvolvimento embrionário é um fator que pode interferir nos índices de prenhez, principalmente se não houver um adequado sincronismo com a receptora. Diferenças entre os estágios nas taxas de prenhez foram descritas por Wright (1981) e Looney et al. (1994), porém estes autores obtiveram índices maiores com embriões em estágios de blastocistos, assim como por Hasler et al. (1987), que

encontrarm mais animais prenhes resultantes de blastocistos iniciais e blastocistos. Entretanto, Shea (1981), Lindner e Wright (1983), Spell et al. (2001) e Hasler et al. (2002) reportaram resultados semelhantes de prenhez, independentemente do estágio de desenvolvimento do embrião. Os dados do presente experimento corroboram estes resultados, pois não foram verificadas diferenças nas taxas de prenhez, apesar de haver embriões de diferentes estágios (BI, BL e BX) colhidos no mesmo dia (dia 7).

Ramos et al. (2006) registraram que embriões bovinos produzidos *in vitro* podem ser transportados a fresco ou vitrificados por períodos ao redor de até 12 horas, e ainda assim possibilitar taxas de eclosão satisfatórias. No presente experimento foi possível confirmar a investigação destes autores, pois tomou-se o cuidado de não permitir que o período de transporte dos embriões ultrapassasse 14 horas.

CONCLUSÃO

8 CONCLUSÃO

O novo dispositivo à base de biopolímeros Progestar[®] proporcionou taxas de aproveitamento, de concepção e de prenhez semelhantes às obtidas com emprego de Crestar[®] em programas de TETF.

REFERÊNCIAS

ABIEC. Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Balanço da Pecuária Bovídea de Corte. 13/12/2006, Disponível em: < <http://www.abiec.com.br/estatisticas/14.pdf> >. Acesso em: 27 mar. 2008.

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. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 95, n. 2, p. 627-640, 1992.

ANUALPEC. Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: **Instituto FNP**, 2006.

AVERY, B.; GREVE, T. Apparent abnormalities of in vitro produced bovine embryos. In: Internacinal Symposion SIPZ, , **Proceedings**..., v. 30, p. 171-183, 1995.

BARBUIO, J. P.; MARQUES, A.; MADUREIRA, E. H. Sincronização da ovulação com benzoato de estradiol após o tratamento com MGA/PG/17 β estradiol+progesterona em novilhas nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 312-314, 1999.

BARROS, C. M.; FERNANDES, P.; NOGUEIRA, M. F. G. Controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação em zebuínos de corte. In: MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, São Paulo, FUNVET, p. 158-189, 2000.

BARUFI, F. B. **Sincronização do ciclo estral e da ovulação em bovinos de corte usando tratamentos com Crestar, CIDR ou CIDR reutilizado, seguidos ou não pela administração de eCG.** 68 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

BARUFI, F. B.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, A. Avaliação do uso de Crestra ou CIDR-B + benzoato de estradiol seguidos ou não pela aplicação de gonadotrofina corionica eqüina no desempenho reprodutivo de vacas de corte com bezerros ao pé. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, p. 332-333, 1999.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; BERBER, R. C. A.; VALENTIM, R.; CARVALHO FILHO, A. F.; COSTA NETO, W. P. Follicular dynamic and pregnancy rate in embryo recipient (bos taurus indicus x bos taurus taurus) treated with "Ovsynch" protocol for fixed-time embryo transfer. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 96-106, 2003.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; BO, G. A.; COSTA NETO, W. P.; GRANDINETTI, R. R. Superestimulação ovariana de receptoras de embrião bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P_4 e taxas de prenhez. In: XV Reunião Anual de SBTE, **Anais...** Porto Alegre, v.28, n.1, p. 1-358, 2000a.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E.H.; COSTA NETO, W.P.; BO, G.A.. Increased pregnancy rate in embryo recipients treated with CIDR-B devices. **Theriogenology**, v. 55, p.355, 2001.

BAXTER, S. J.; WARD, W. R. Incidence of fetal loss in cattle after pregnancy diagnosis using an ultrasound scanner. **Vet. Rec.**, v. 140, p. 287-288, 1997.

BEAL, W. E.; GOOD, G. A.; PETERSON, L. A. Estrus synchronization and pregnancy rates in cyclic and noncyclic beef cows and heifers treated with Syncro-Mate B or norgestomet and alfaprostol. **Theriogenology**, v. 22, p. 59-66, 1984.

BEARD, A. P.; LAMMING, G. E. Oestradiol concentration and the development of the oxytocin receptor and oxytocin-induced prostaglandin $F_{2\alpha}$ release in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, p. 469-475, 1994.

BECK, T. W.; SMITH, V. G.; SEGUIN, B. E.; CONVEY, E. M. Bovine serum LH, GH and prolactin Following chronic implantation of ovarian steroids and subsequent ovariectomy. **Journal of Animal Science**, v. 42, n. 2, p. 461-468, 1976.

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

BERGFELT, D. R.; KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Continued periodic emergence of follicular waves in non-bred progesterone-treated heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 24, n. 3-4, p. 193-204, 1991.

BINELLI, M. Estratégias anti-luteolíticas para a melhora da sobrevivência embrionária em bovinos. In: MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, São Paulo, FUNVET2000, p. 99-114.

BINELLI, M.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.; BARUSELLI, P.S. Atualizações sobre estratégias antiluteolíticas para o aumento da fertilidade em bovinos. In: **Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina, Brasil:[s.n.], v.1, p. 246, 2004.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v. 56, n. 9, p. 1451-1463, 2001.

BÓ, G. A. Sincronización de cellos para programas de inseminación artificial y transferencia de embriones bovinos. In: Simpósio sobre Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. **Anais...** 2000, São Paulo,, p. 35-60.

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

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

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

BÓ, G. A.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R.J. The use of Estradiol and progestogen treatment for the control of follicular wave dynamic in beef cattle. **Theriogenology**, v. 40, p. 165, 1994.

BÓ, G. A.; NASSER, L. F.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Effect of Estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular wave, and circulating gonadotropin in heifers. **Theriogenology**, v. 41, p. 225-239, 1993.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRIBUTO, R.; TRIBUTO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-pointing embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 53-72, 2002.

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

BUNT, C. R.; RATHBONE, C.; BURGRAAF, C. R.; OGLE, C. R.; BURKE, C. R. Elevation of plasma progesterone levels in cattle using a poly (ϵ -caprolactone) and cyclodextrin intravaginal insert containing progesterone. In: SYMP. CONTROL. REL. BIOACT. MATER., 26, 1999, Boston. **Proceedings...**, 1999, p. 1172-1173.

BURNS, P. D.; GRAF, G. A.; HAYNES, S. H.; SILVA, W. J. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF_{2 α} synthesis in bovine endométrium: roles of phospholipases C and A2. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 14, p. 181-191, 1997.

BROADBENT, P. J.; STEWART, M.; DOLMAN, D. F. Recipient management and embryo transfer. **Theriogenology**, v. 35, p. 125-139, 1991.

BREARD, A. P.; LAMMING, G. E. Oestradiol concentration and the development of the oxytocin receptor and oxytocin-induced prostaglandin F_{2 α} release in ewes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, p. 469-475, 1994.

CARTMILL, J. A.; EL-ZARKOUNAY, S.; ZARKOUNAY, S. Z.; HENSLEY, B. A.; ROZELL, T. G.; SMITH, J. F. An alternative breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 4, p. 799-806, 2001.

CARVALHO, N. A. T.; NAGASAKU, E. M.; VANNUCCI, R. H.; VALIM, J. R.; MADUREIRA, E. H.; BARUSSELLI, P. S. Uso de dispositivo intravaginal de progesterona por nove ou oito dias para sincronização da ovulação em búfalas na estação reprodutiva desfavorável. In: Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 17, 2007, Curitiba-PR. **Anais...** Belo Horizonte-MG, CBRA, 2007, p. 345.

CAVALIER, J.; FITZPATRICK, L. A. Artificial insemination of Bos indicus heifers: The effects of body weight, condition score, ovarian cyclic status and insemination regimen on pregnancy rate. **Australian Veterinary Journal**, v. 72, p. 441-447, 1995.

CAVALIER, J.; RUBIO, I.; KINDER, J. E. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrines changes in Bos Taurus indicus cows. **Theriogenology**, v. 47, p. 801-814. 1997.

CROWE, M. A.; GOULDING, D.; BAQUISI, A.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. **Journal Reproduction Fertility**, v. 99, p. 551-555, 1993.

CUTAIA, L.; MORENO, D.; VILLATA, M. L.; BÓ, G. A. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. **Theriogenology**, v. 55, p. 408, 2001.

DAY, M. L.; BURKE, C. R.; TAUFA, V. K. The strategic to enhance fertility and submission rate of progestin-based estrus synchronization programs in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 523-529, 2000.

DAVIS, M. E.; HARVEY, W. R.; BISHOP, M. D. Use of embryo transfer to induce twinning in beef cattle: embryos survival rate, gestation length, birth weight and weaning weight of calves. **Journal Animal Science**, v. 67, p. 301-310, 1989.

CHANDRA, R.; RUSTGI, R. Biodegradable Polymers. **Progress Polymer Science**, v. 23, p. 1273-1335, 1998.

CHIELLINI, E.; SOLARO, R. Biodegradable polymeric materials. **Advanced Materials**. v. 8, n. 4, p. 305-313, 1996.

CHIELLINI, E.; SOLARO, R. "Environmentally Degradable Polymers and Plastics. An Overview", in: Anais do International Workshop on Environmentally Degradable and Recyclable Polymers in Latin America. 1988, Campinas. **Anais...**, p. 15-20.

CUPP, A. S.; STUMPF, T. T.; KOJIMA, N.; WERTH, L. A.; WOLFE, M. W.; ROBERSON, M. S.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Secretion of gonadotrophins charge during the luteal phase of the bovine oestrus cycle in the absence of corresponding changes in progesterone or 17 β -estradiol, **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 109-119, 1995.

DERVAL, S. R.; FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da biodegradação de poli- β -(hidroxibutirato), Poli- β -(hidroxibutirato-co-valerato) e Poli- ϵ -(caprolactona) em solo compostado. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v.12 nº4, p. 311 - 317, 2002.

DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. *Journal of reproduction and Fertility*, v. 59, p. 463-468, 1980.

DUNNE, L. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. **Animal Reproduction Science**, v. 58, n. 1,2, p. 39-44, 2000.

DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p. 1211-1239, 2000.

ELLI, M.; GAFFURI, B.; FRIGERIO, A.; ZANADELLI, M.; COVINI, D.; CADIANI, M.; VIG NALI, M. Effect of a single dose of ibuprofen lysinate before embryo transfer on pregnancy rates in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 151-154, 2001.

FARIN, C. E.; FARIN, C. L.; Transfer of bovine embryo produced in vivo or in vitro: survival and fetal development. **Biology Reproduction**, v. 52, p. 697-703, 1995.

FARIN, P. W.; CROSIER, A. E.; FARIN, C. E. Influence of *in vitro* systems on embryo survival and fetal development in cattle. **Theriogenology**, v. 55, p. 151-170, 2001.

FERNANDES, R. H. R. **Efeito da suplementação lipídica e da aplicação de eCG sobre o desempenho reprodutivo de vacas de corte, em programas de IATF.** 2006. 90 f. Tese (doutorado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FERRAZ, J. B. S.; ELLER, J. P. A. A importância da correta avaliação do patrimônio genético antes da transferência de embriões. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 27, p. 101-109, 1999. Suplemento. Apresentado à XV Reunião da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 1999.

FERREIRA, M. B. D.; LOPES, B. C.; SANTOS, I. C.; ANDRADE, V. J.; CONCEIÇÃO Jr, V. Escore corporal e anestro pós parto em primíparas zebu. **Revista brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, p. 114-117, 1997.

FIKE, K. E.; KOJIMA, F. N.; LINDSEY, B. R.; BERGFELD, E. G. M.; QUINTAL-FRANCO, J. A.; MELVIN, E. J.; ZANELLA, E. L.; WEHRMAN, M. E.; KINDER, J. E. Regulation of frequency of luteinizing hormone pulses by magnitude of acute change in circulation concentration of female. **Animal reproduction Science**, v. 68, p. 302-310, 2004.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biological Reproduction**, v. 50, p. 225-232, 1994.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P. E.; DEAVER, D. R.; SMITH, V. G.; LEWIS, G. S.; INSKEEP, E. K. Endocrine profiles associated with life span of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 62, p. 1353-1362, 1986.

GEISERT, R. D.; MORGAN, G. L.; SHORT, E. C.; ZAVY, M. T. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. **Reproduction Fertility and Development**, v. 4, n. 3, p. 301-305, 1992.

GIMENES, L. U.; CARVALHO, N. A. T.; SÁ FILHO, M. F.; SANTIAGO, L. L.; CARVALHO, J. B. P.; MAPLETOFT, R. J. Capacidade ovulatória em novilhas *Bos indicus*. **Acta Scientiae Veterinary**, v. 33, p. 209, 2005.

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

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

GOFF, A. K. Embryonic signals and survival. **Animal Reproduction Science**, v. 37, n. 3, p. 133-139, 2002.

GOMES, J. G. C.; BUENO NETTO, C. L. Produção de Plásticos Biodegradáveis por Bactérias, **Revista Brasileira Engenharia Química**, v. 17, p. 24-29, 1997.

GREVE, T. In vitro embryotechnologies in cattle with particular reference to their use in cattle breeding schemes. **Reproduction Domestic Animal**, v. 27, p. 22-28, 1992.

GREVE, T.; AVERY, B.; CALLESEN, H. Viability of *in vivo* and *in vitro* produced bovine embryos. **Reprodução Domestic Animal**, v.28, p. 164-169, 1993.

GRIMARD, B.; HUMBLLOT, P.; MIALOT, J. P.; JEANGUYOT, N.; SAUVANT, D.; THIBIER, M. Absence of response to oestrus induction and synchronization treatment is related to lipid mobilization in suckled beef cows. **Reproduction Nutrition and Development**, v. 37, p. 129-140, 1997.

GUSTAFSSON, H.; LARSSON, K.; KINDAHL, H. Sequential endocrine changes and behavior during oestrus and metoestrus in repeat breeder and virgin heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 10, p. 261-273, 1986.

HAFEZ E. S. E., HAFEZ B. **Reprodução animal**. 7 ed. Barueri: Manole, 2004.

HASLER, J. F. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. **Teriogenology**, v. 56, p. 1401-1415, 2001.

HASLER, J. F.; CARDEY, E.; STOKES, J. E. Nonelectrophoretic PCR-sexing of bovine embryo in a commercial environment. **Theriogenology**, v. 58, p. 1457-1469, 2002.

HASLER, J. F.; MCCAULEY, A. D.; LATHROP, W. F. Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. **Theriogenology**, v. 27, p. 139-168, 1987.

HENAO, G.; OLIVEIRA-ANGEL, M.; MALDONADO-ESTRADA, J. G. Follicular dynamics during postpartum anestrus and the first estrous cycle in suckle or non-suckled Brahman (*bos Taurus indicus*) cows. **Animal Reproduction Science**, v. 63, p. 127-136, 2000.

HOBSON, W. C. HANSEL, W. Plasma LH level after ovariectomy, corpus luteum removal and Estradiol administration in cattle. **Endocrinology**, v. 91, n. 1, p. 185-190, 1972.

HUANG, J. C.; SHETTY, A. S. E, WANG, M. S. Biodegradable plastics: a review. **Adv. Polym. Technol.**, v. 10, p. 23, 1990.

HUMBLLOT, P.; GRIMARD, B.; RIBON, O.; KHIREDINE, B.; DERVISHI, V.; THIBIER, M. Sources of variation of postpartum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in primiparous Charolais cows treated with Norgestomet implants and PMSG. **Theriogenology**, v. 46, p. 1085-1096, 1996.

HUNTER, M. G. Characteristic and causes of the inadequate corpus luteum. *Journal Reproduction Fertility*, v. 43, p. 91-99, 1991.

IMAKAWA, K. M.; DAY, L.; ZALESKY, D. D.; GARCIA-WINDER, M.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Regulation of pulsatile LH secretion by ovarian steroids in the heifer, **Journal of Animal Science**. V. 63, n. 1, p. 162-168, 1986.

INTERVET. Intervet Brasil. Home Page Intervet Brasil, Produto Crestar®. 15/01/2000. Disponível em: <
http://www.intervet.com.br/products/crestar_/010_caracter_sticas.asp>. Acesso em: 01 maio 2008.

JOLLY, P. D.; TISDALL, D. J.; HEATH, D. A. Apoptosis in bovine granulosa cells in relation to steroid synthesis, cAMP response to FSH and LH, and follicular atresia. **Biological Reproduction**, v. 51, p. 934-944, 1994.

JONKER, F. H. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, n. 1, p. 415-430, 2004.

KALTENBACH, C. C.; DUNN T. G. Endocrinologia da reprodução. In: HAFEZ E. S. E., **Reprodução Animal**. 6. ed. São Paulo, Manole 1988, p. 95-129.

KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Factors affecting the original of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v. 26, p. 13-24, 1991.

KASTELIC, J. P.; KNOPF, L.; GINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandin F2 treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 23, p. 169-180, 1990.

KASTELIC, J. P.; MCCARTNEY, D. H.; OLSON, W. O.; BARTH, A. D.; GARCIA, A.; MAPLETOFT, R. J. Estrus synchronization in cattle using Estradiol, melengestrol acetate and PGF. **Theriogenology**, v. 46, p. 1295-1304, 1996.

KASTELIC, J. P.; OLSON, W. O.; MARTINEZ, N. Sincronização do estro em bovinos Hereford-Angus com Crestar. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, p. 101-103, 1997.

KERBLER, T. L.; BUHR, M. M.; JORDAN, L. T.; LESLIE, K. E.; WALTON, J. S. Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by conceptus in the cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 703-714, 1997.

KESLER, D. J.; FAVERO, R. J.; TROXEL, T. R. A. Comparison of hidron and silicone implants in the bovine norgestomet and estradiol valerate estrus synchronization procedure. **Drug development and Industrial Pharmacy**, v. 21, p. 475-485, 1995.

KESNER, J. S.; PADMANABHAN, V.; CONVEY, E. M. Estradiol induces and progesterone inhibits the preovulatory surges of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 26, p. 571-578, 1982.

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

KING, K. K.; SEIDEL, J. G. E.; ELSEDEN R. P. Bovine embryo transfer pregnancies. In Abortion rates and characteristic of calves. **Journal Animal Science**, v.61, p. 747-757, 1985.

KING, W. A. Embryo-mediated pregnancy failure in cattle. **Canada Veterinary Journal**, v. 32, p. 99-103, 1991.

KOJIMA, N.; STUMPF, T. T.; CUPP, A. S.; WERTH, L. A.; ROBERSON, M. S.; WOLFE, M. W.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Progestins and exogenous progesterone do not mimic the corpus luteum in regulation in LH and 17 estradiol incirculation of cows. **Biology of Reproduction**, v. 47, n. 6, p. 1009-1017, 1992.

LINDNER, G. M.; WRITH, R. W. Bovine embryo morphology and evaluation. **Theriogenology**, v. 20, p. 407-416, 1983.

LOONEY, C. R.; ODEN, A. J.; MASSEY, A. Pregnancy rate following HCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. **Theriogenology**, v.21, p. 246, 1984.

LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J.L.; HUNTER, R.H.F. Progesterone supplementation during the early fetal period reduce pregnancy loss in high-yielding dairy cattle. **Theriogenology**, v. 62, n. 8, p. 1529-1535, 2004.

LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J. L.; RUTLLANT, J.; LÓPEZ-BÉJAR, M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. **Theriogenology**, v. 57, n. 4, p. 1251-1261, 2002.

LUO, S.; NETRAVALI, A. N. A study of physical and mechanical properties of poly-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate during composting. **Polymer Degradation and Stability**, v. 80, p. 59- 66, 2003.

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

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

MACCLURE, T. J. Na experimental study of the causes of a nutritional and lactional stress infertility of pasture-fed cows, associated with loss of body weight at about the time of mating. **Resdent Veterinary Science**, v. 2, p. 247-254, 1970.

MADUREIRA, E. H. Controle farmacológico do ciclo estral com emprego de progesterone e progestágenos em bovinos. In: MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P.S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, São Paulo, FUNVET 2000, p. 89-98,

MADUREIRA, E. H.; BARBUIO, J. P.; ARRUDA, R. P.; BERTAN, C. M.; MIZUTA, K.; BRAZZACH, M. L.; BARNABE, R. C.; RODRIGUES, P. H. M. Sincronização do estro em fêmeas bovinas usando acetato de melengestrol (MGA) associado a prostaglandina F_{2α} e ao 17 β estradiol. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, p. 94 – 97, 1997.

MADUREIRA, E. H.; PIMENTEL, J. R. V. IATF como ferramenta para melhorar a eficiência reprodutiva. Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, n. 16, 2005, Goiânia. **Proceedings...** Goiânia: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 2005, p.16.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E; ROBINSON, R. S.; WATHES, D. C. The regulation of interferon-tau production and uterine receptors during early pregnancy. **Jornal of Reproduction and Fertility**, v. 54, p. 317-328, 1999.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of luteolytic mechanism in cow. **Reproduction**, v. 121, n. 1, p. 175-180, 2001.

MANTOVANI, A. P. **Utilização prolongada de dispositivo intravaginal contendo progesterone (CIDR®) para indução de folículos persistentes em receptoras de embrião bovino**. 2003. 84 f. Dissertação (Mestrado) Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003

MAPLETOFT, R. J; BÓ, G. A.; ADAMS, G. P. Avanço na manipulação do ciclo estral de doadoras e receptoras nos programas de transferência de embriões em bovinos . **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 28, n. 1, p. 24-51, 2000. Suplemento. Apresentado à XV Reunião da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões, 2000.

MARKETTE, K. L; SEIDEL, J. G. E.; ELSDEN, R. P. Estimation of embryonic losses in bovine embryo transfer recipients from progesterone profiles and returns to estrus. **Theriogenology**, v. 23, p. 45-52, 1985.

MARTINEZ, M. F. Effect of LH e GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 57, p. 23-33, 1999.

MASSIP, A.; MERMILLOD, P.; VAN LANGENDONCKT, A. Survival and viability of fresh and frozen-thawed *in vitro* bovine embryos. **Reproduction Nutrition Development**, v. 35, p. 3-10, 1995.

MCCRACKEN, J. A. Prostaglandins and luteal regression – a review. **Prostaglandins**, v. 1, p. 1-4, 1972.

MCCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C.; ROBINSON, A. G. The central oxytocin pulse generator: a pacemaker for luteolysis. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 395, n. 1-2, p. 133-154, 1995.

MELLO, M. R. B. **Clonagem em bovinos**: uso de fibroblastos fetal e adulto como fonte doadora de núcleo. 2003. 82f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MEYER, M. D.; HANSEN, P. J.; THATCHER, W. W.; DROST, M.; BADINGA, L.; ROBERTS, R. M.; LI, J.; OTT, T. L.; BAZER, F. W. Extension of corpus luteum life span and reduction of uterine secretion of prostaglandin $F_{2\alpha}$ of cows in response to recombinant interferon-tau. **Journal Dairy Science**, v. 78, p. 1921-1931, 1995.

MIHM, M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cattle. **Reproduction Domestic Animal**, v. 34, p. 277-284, 1999.

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

MOURA, M. T.; MARQUES, M. O.; FRARE, J.; MADUREIRA, E. H.; BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Sincronização da ovulação com Crestar e CIDR para inóvulação de embriões bovino em tempo fixo. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal, 4, 2001, Córdoba. **Anais...** 2001 p. 269.

MURTA, J. E. J.; ANDRADE, V. J.; PERIRA, J. C. C. Taxas de prenhez em vacas nelore com utilização do protocolo Crestar para a sincronização do cio. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, p. 30-34, 2001

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

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

NETT, T. M.; TURZILLO, A. M.; BARATTA, M.; RISPOLI, L. A. Pituitary effects of steroids hormone on secretion of follicle- stimulating hormone and luteinizing hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 23, n. 1-2, p. 33-42, 2002.

NIEMANN, H.; WRENZYCKI, C. Alterations of expression of development ally important genes in preimplantation bovine embryos by in vitro culture conditions: implications for subsequent development. **Theriogenology**, v. 53, n. 1, p. 21-34, 2000.

NISWENDER, G. D.; JUENGEL, J.L.; SILVA, P.J.; ROLLYSON, M.K.; MCINTUSH, E.W. Mecanismos controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v. 80, n. 1, p. 1-29, 2000.

NOGUEIRA, M.F.; MELO, D. S.; CARVALHO, L. M.; FUCK, E. J.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Do high progesterone concentrations in embryos recipients synchronized with PGF and ECG?. **Theriogenology**, v. 61, p. 1283-1290, 2004.

NOGUEIRA, M. F. G.; MELO, D. S.; CARVALHO, L. M.; FUCK, E. J.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rate in embryos recipients synchronized with PGF_{2α} and CG? **Theriogenology**, v. 61, n. 7-8, p. 1283-1290, 2004.

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

PETERS, K. E.; BERGFELD, E. G.; CUPP, A. S.; KOJIMA, F. N.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; WEHRMAN, M. E.; GROTTJAN, H. E.; HAMERNIK, D. L.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora luteal (CL) but is not required to maintain CL function in heifers, **Biology of Reproduction**, v. 51, n. 6, p. 1248-1254, 1994.

PIMENTEL, J. R. V. **Emprego de matriz polimérica biodegradável, em dispositivos vaginais, para liberação sustentada de progesterona em fêmeas bovinas: testes *in vitro* e *in vivo***. São Paulo, 2006. 97 f. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2006.

PRATT, S. L.; SPITZER, J. C.; BURNS, G. L.; PLYLER, B. B. Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with Norgestomet and various dosages of Estradiol valerate in suckled cows. **Journal Animal Science**, v. 69, p. 2721-2726, 1991.

PURSLEY, J. R.; KOSOROK, M. R.; WILTIBANK, M. C. Reproductive manegemmente of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science**, v. 80, 301-306, 1997.

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

PUTNEY, D. J.; DROST, M.; THATCHER, W. W. Embyonic development in dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1 to 7 post insemination. **Theriogenology**, v. 30, p. 195-209, 1988.

RABIEE, A. R.; MACMILLAN, K. L.; SCHWARZENBERGER, F. Excretion rate of progesterone in milk and faeces in lactating dairy cows with two levels of milk yield. **Reproduction Nutrition Development**, v. 41, p. 309-319, 2001.

RAGHAVAN, D. Characterization of Biodegradable Plastics. **Polym. Plast. Technol. Eng.**, v. 42, n. 1, p. 41-63, 1995.

RAJAMAHENDRAM, R.; TAYLOR, C. Follicular dynamic and temporal relationships among body temperature, oestrus, the surge of luteinizing hormone and ovulation in Holstein heifers treated with norgestome. **Journal of Reproduction and fertility**, v. 92, p. 416-467, 1991.

RAMOS, A. A.; POLISSENI, J.; SÁ, W. F.; FERREIRA, A. M.; CAMARGO, L. S. A.; FOLHADELLA, D. S.; NOGUEIRA, L. A. G. Efeito do transporte no desenvolvimento de embriões bovino cultivados *in vitro* a fresco ou reaquecidos após vitrificação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 2285-2289, 2006.

RATHBONE, M. J.; BUNT, C. R.; OGLE, C. R.; BURGGRAAF, S.; MACMILLAN, K. L.; PICKERING, K. Development of an injection molded poly(epsilon-caprolactone) intravaginal insert for the delivery of progesterone to cattle. **J. Controlled Release**, v. 85, n. 1–3, p. 61–71, 2002.

RATHBONE, M. J.; KINDER, J. E.; FIKE, K.; KOJIMA, F.; CLOPTON, D.; OGLE, C. R.; BUNT, C. R. Recent advance in bovine reproductive endocrinology and physiology and the impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advanc Drug Delivery Reviews**, v. 50, p. 277–320, 2001

REICHENBACH, H. D.; LIEBRICH, J.; BERG, U. Pregnancy rate and births after unilateral or bilateral transfer of bovine embryos produced *in vitro*. **Journal Reproduction Fertility**, v.95, p. 363–370, 1992.

REINDERS, J. M. C.; WURTH, Y. A.; KRUIP, T. A. M. From embryo to calf after transfer of *in vitro* produce bovine embryos. **Theriogenology**, v. 43, p. 306, 1995.

REIS, E. L. **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) no protocolo de sincronização da ovulação para transferência de embriões em tempo fixo**. 2004. 101f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

REMSEN, L. G.; ROUSSEL, J. D. Pregnancy rates relating to plasma progesterone level in recipient heifers at day of transfer. **Theriogenology**, v.18, p. 365–372, 1982.

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

RICHARDS, M. W.; WETTEMAN, R. P.; SCHOENEMAN, H. M. Effect of restricted intake on cyclic ovarian activity and estrus in Hereford cows. **Animal Science Research Report**, Oklahoma, v.118, p.308–311, 1986.

RIVERA, H.; LOPEZ, H.; FRICKE, P.M. Fertility of Holstein dairy heifers after synchronization of ovulation and timed AI or AI after removed tail chalk. **Journal of Dairy Science**, v. 34, p 234, 2004.

ROBERSON, M. S.; WOLFE, M. W.; STUMPF, T. T.; KITOK, J. E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biology of Reproduction**, v.41, n.6, p.997–1003, 1989.

ROBERTS, R. M.; SCHALUE-FRANCIS, T.; FRANCIS, H. Maternal recognition of pregnancy and embryonic loss. **Theriogenology**, v. 33, p. 175-183, 1990.

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

ROCHA, J.L. Sincronização hormonal da onda follicular e do estro em novilias de corte mestiças monitoradas por radiotelemetria. 2000. 125f. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2000.

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

RODRIGUES, C. A., MANCILHA, R. F., DALALIO, M., REIS, E. L., NICHI, M., MADUREIRA, E. H., BARUSELLI, P. S. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embriões FIV tratadas com GnRH no momento da inovulação. In: SBTE. Fortaleza. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 24 p. 550-551, 2004.

ROSA D. S.; CHUI, Q. S. H.; FILHO, R. P.; AGNELLI, J. A. M. Avaliação da Biodegradação de Poli-b-(Hidroxibutirato), Poli-b-(Hidroxibutirato-co-valerato) e Poli-e-(caprolactona) em Solo Compostado. **Polímeros**, v. 12, no. 4. São Carlos, 2002.

ROSA, D.S.; FRANCO, B.L.M. Análise do Desenvolvimento de Dióxido de Carbono de Polímeros Biodegradáveis quando Submetidos a Lodo Ativado, **Congresso Brasileiro de Polímeros**, 5., 1999, p. 1241.

RUIZ-CORTEZ, Z. T.; OLIVEIRA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (bos taurus indicus) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v. 54, p. 211-120, 1999.

SANCHEZ, T.; WEHRMAN, M.E.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S.; BERGFELD, E.G.; PETERS, K.E.; MARISCAL, V.; KITOK, R.J.; KINDER, J.E. Dosage of the synthetic progestin, Norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 β -estradiol in heifers. **Biology of reproduction**, v. 52, p. 464, 1995.

SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D. K.; SARTORI, R.; ARMENTANO, L. E.; WILTBANK, M. C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p. 2831-2842, 2002.

SANTOS, J. E.; THATCHER, W. W.; CHEBEL, R. C.; CERRI, R. L. A.; GALVÃO, K. N. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, n. 1, p. 513-535, 2004.

SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, 18, 2004, Barra Bonita-SP. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, p. 35-50, 2004.

SARTORI, R.; GUMEN, A.; GUENTER, J. N.; SOUZA, A. H.; WILTBANK, M. C. Comparison of artificial insemination (AI) versus embryo transfer (ET) in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 1, p. 238-239, 2003.

SAS. SAS User's Guide Statistics. **Statistical Analysis System Institute**, Inc 5. ed. Cary, NC. 1985

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

SCHALLENBERGER, E.; PETERSON, A. J. Effect of ovariectomy on tonic gonadotropin secretion in cyclic and post-partum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 64, n. 1, p. 47-52, 1982.

SCHIMITT, E. S. P.; DIAZ, T. C.; DROST, M. Use of GnRH agonist on human chorionic gonadotropin for time insemination in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 47, p. 1084-1091, 1996.

SEGUIN, B. E.; CONVEY, E. M.; OXENDER, W. D. Effect of gonadotropin release hormone and human chorionic gonadotropin on cows with ovarian follicular cysts. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, p. 153-157, 1976.

SHEA, B. F. Evaluating the bovine embryo. **Theriogenology**, v.15, p. 31-42, 1981.

SHORT, R. E.; BELLOW, R. A.; STAIGMILLER, R. B. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, p. 799-816, 1990.

SILCOX, R. W.; POWELL, K. L.; KISER, T. E. Ability of dominant follicles to respond to exogenous GnRH administration is dependent on their stage of development. **Journal of Animal Science**, v. 71, , p.219, 1993. Supplementn 1

SMITH, M. W.; STEVENSON, J. S. Fate of dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 α and progestins in the absence on presence of a functional corpus luteun. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 3743-3751, 1995.

SOUZA, C. A. Z.; AMARAL, F. A.; NEVES, S.; FOSECA, C. P. Aplicação de Poli-b - (hidroxibutirato) e Poli-b-(hidroxibutirato-co-valerato) como eletrólitos sólidos Poliméricos biodegradáveis. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), **29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 2000, p 765.

SPELL, A. R.; BEAL, W. E.; CORAH, L. R.; LAMP, G. C. Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rate of embryo transfer in beef cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 287-297, 2001.

SPICER, L. J.; TUCKER, W. B.; ADAMS, G. D. Insuline-like growth factor-I in dairy cows: relationship among energy balance, body condition, ovarian activity and estrous behavior. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 929-937, 1990.

SPITZER, J. C.; NISWENDER, G. D.; SEIDEL, G. E. Fertilization and blood levels of progesterone an LH in beef heifers on a restricted energy diet. **Journal Animal Science**, v. 46, p. 1071-1077, 1978.

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

STAPLES, C. R.; THATCHER, W. W.; CLARK, J. H. Relationship between ovarian activity and energy status during the early post partum period of high producing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 73, p. 938-947, 1990.

STEVENS, M.P. "Polymer Chemistry an Introduction", New York , **Oxford University Press**, 1999.

TANABE, T. Y.; HAWK, H. W.; HASLER, J. F. Comparative fertility of normal and repeat-breeding cows as embryo recipients. **Theriogenology**, v. 23, p. 687-696, 1985.

THATCHER, W. W.; STAPLES, C. R.; DANET-DESNOYERS, G. Embryo health and mortality in sheep and cattle. **Jornal Animal Science**, v. 72, p. 16-30, 1994.

THIBIER, M. Data retrieval committee annual Report, **Embryo Newsletter**, December, v. 32, p. 1373, 2003.

THOMPSON, K. E.; STEVENSON, J. S.; LAMB, G. C.; GRIEGER, D. M.; LÖEST, C. A. Follicular, hormonal, and pregnancy responses of early postpartum suckled beef to GnRH, norgestomet, and prostaglandin $F_{2\alpha}$. **Jornal of Animal Science**, v.77, p. 1823-1832, 1999.

TIBARY, A.; LAHLOU-KASSI, A.; NAKR, M.; HADDADA, B. Reproductive patterns of Santa Gertrudis heifers in Morocco II. Fertility of cyclic heifers after synchronization of estrus. **Theriogenology**, v. 37, n.2, p. 389-392, 1992.

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

VAN CLEEFF, J. K.; LUCY, M. C.; WILCOX, C. J. Plasma and milk progesterone and plasma lh in ovariectomized lactating cows treated with new used controlled internal drug release devices. **Animal Reproduction Science**, v. 27, p. 91-106, 1992.

VAN WAGTENDONK-DE LEEUW, A. M.; MULLAART, E.; DE ROOS, A. P. W. Effects of different reproduction techniques: AI, MOET or IVP, on health and welfare of bovine offspring. **Theriogenology**. V. 53, p. 575-597, 2000.

VASCONCELOS, J. L. M. **Avaliação da sincronização de ovulação e fatores relacionados com a produção de leite e taxa de concepção em vacas.**, 1998, 116 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 1998.

VASCONCELOS, J. L. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C.; Effects of Syncro-Mate B combined with GnRH on follicular dynamics and time of ovulation. **Journal of Animal Science**, v. 72, p. 174, 1994.

VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. L.; LACERDA, J. A. Pregnancy rate, pregnancy loss and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. **Biology Reproduction**, v. 56, p. 140, 1997.

VIEIRA, R. C.; FRANCO, R. V. R.; DINIZ, E. G.; JACOMINI, J. O. Relationship between the corpus luteum morphology and pregnancy rates in bovine embryo recipients. **Bioscience Journal**, v. 18, n. 2, p. 99-102, 2002.

VAN CLEEFF, J. K.; LUCY, M. C.; WILCOX, C. J.; THATCHER, W. W. Plasma and milk progesterone and plasma LH in ovariectomized lactating cows treated with new or used controller internal drug release devices. **Animal Reproduction Science**, v. 27, p. 91-106, 1992.

VILELA, E. E.; VASCONCELOS, J. L.; SANTOS, R. M.; PERES, G. C.; LOSI, T. C.; MARQUEZINI, G. H. L. Efeito da duração do implante de progesterona e da remoção do bezerro no diâmetro folicular em vacas Nelore pós parto. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 3, p. 421-423, 2003.

VILLA-GODOY, A. K.; HUGHES, T. L.; EMERY, R. S.; CHAPIN, L. T.; FOGWELL, R. L. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 71, p. 1063-1072, 1988.

VIUFF, D.; RICKORDS, L.; OFFENBERG, H.; HYTTEL, P.; AVERY, B.; GREVE, T.; OLSAKER, I.; WILLIAMS, J.L.; CALLESEN, H.; THOMSEN P.D. A high proportion of bovine blastocysts produced in vitro are mixoploid. **Biology Reproduction**, v. 60, n. 6, p. 1273-8, 1999.

WATHES, D. C.; ROBINSON, R. S.; MANN, G. E.; LAMMING, G. E. The establishment of early pregnancy in cow. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 33, n. 4, p. 279-284, 1998.

WILLIAMS, C.L.; STANCEL, G.C. Estrogenos e progestogenios. In: GOODMAN, H.; GILMAN, T.L. **As bases farmacológicas da terapautica**, 8. ed. Manole, São Paulo, p 1045-1067, 1996.

WILTBANK, M. C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of time breeding programs. In: ANNUAL MEETING OF SOCIETY FOR THERIOGENOLOGY, **Proceedings...** p.83-97, 1997

WINZENBURG, G.; SCHMIDT, C.; FUCHS, S.; KISSEL, T. Biodegradable polymers and their potential use in parenteral veterinary drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 56, p. 1453-1466, 2004.

WRIGHT, J. M. Non-surgical embryo transfer in cattle, embryo recipient interactions. **Theriogenology**, v. 15, p. 43-56, 1981.

XU, Z. Z.; BURTON, L. J. Estrus synchronization of lacting dairy cows with GnRH progesterone and prostaglandin F2 α . **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 471-476, 2000.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v. 54, p. 01-23, 2000.

ZANENGA, C. A.; PEDROSO, M. F. Early pregnancy check by ultrasound scanning in bovine embryo transfer. In: Reunião Anual Da Sociedade Brasileira De Tecnologia De Embriões,.10, 1995, São Paulo-SP. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 1995, p. 151.