MARCOS VINICIUS BIEHL

**Avaliação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas
nelore submetidas a protocolos de sincronização**

Pirassununga

2012

MARCOS VINICIUS BIEHL

**valiação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas
nelore submetidas a protocolos de sincronização**

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

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de Concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires

Pirassununga

2012

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.2689
FMVZ

Biehl, Marcos Vinicius
Avaliação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas nelore submetidas a
protocolos de sincronização / Marcos Vinicius Biehl. -- 2012.
109 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientadora: Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires.

1. Vacas. 2. CIDR. 3. Prostaglandina. 4. Puberdade. 5. IATF. I. Título.

ERRATA

BIEHL, M. V. Avaliação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas nelore submetidas a protocolos de sincronização. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

Página	Parágrafo	Onde se lê	Leia-se
Página de rosto	2º	valiação	Avaliação
Folha de avaliação	2º	valiação	Avaliação
Resumo	1º	valiação	Avaliação
Abstract	1º	valiação	Avaliação

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

PARECER

Interessado: Marcos Vinícius Biehl

Assunto: Protocolo de experimentação adotado em experimento animal

A Comissão de Ética no uso de animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo analisou o projeto intitulado: "Avaliação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas Nelore submetidas a protocolos de sincronização", protocolado sob o número 2802/2012, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires, e constatou que o mesmo foi realizado de acordo com os princípios de ética adotados por esta Comissão.

São Paulo, 18 de outubro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni

Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BIEHL, Marcos Vinicius

Título: valiação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas nelore submetidas a protocolos de sincronização.

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

DATA: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

À minha família e, em especial, aos meus pais Ari Norberto Biehl e Rosalia Vera Biehl por sempre empenhar-se em dar condições a seus filhos de realizarem seus sonhos, pelo amor incontestável e pelo exemplo de vida.

Pelo orgulho de tê-los como meus pais e amigos, dedico.

Ao meu irmão Max Robert Biehl, pela amizade e companheirismo.

Com carinho, ofereço.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela presença em todos os dias da minha vida, por me guiar e me permitir alcançar minhas metas.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP) e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, pela oportunidade da realização do curso.

Aos meus pais Ari Norberto Biehl e Rosalia Vera Biehl, e ao meu irmão Max Robert Biehl, pelo amor, carinho, compreensão e auxílio nesta fase da minha vida.

a minha avô Edi Pfeifer, pelo enorme carinho, e a todos os meus familiares pelo incentivo.

À Denise Barreiro Campos, pelo amor, incentivo, compreensão, comprometimento e várias qualidades que podem classifica-lá.

Ao Prof. Dr. Alexandre Vaz Pires, pela oportunidade, amizade incondicional e orientação cuja atenção, dedicação e ensinamentos não faltaram em nenhum momento.

À Prof^a. Dr^a. Ivanete Susin, pelos conselhos, colaboração, profissionalismo, preocupação e amizade dada ao longo desta jornada.

Ao Prof. Dr. Michael Lee Day e sua família, pela oportunidade, receptividade, incentivo, amizade e valiosos ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Roberto Sartori Filho, pelos conselhos, atenção e valiosos ensinamentos.

Ao Prof. Milo Charles Wiltbank, pela atenção, compreensão e amizade.

Aos professores do Departamento de Nutrição e Produção Animal, pela receptividade, atenção e cordialidade.

Ao Sr. João Paulo, secretário do VNP, pela atenção, auxílio e dedicação.

Aos funcionários da biblioteca da FMVZ, pela atenção e auxílio nos momentos finais, em especial a Sr^a. Elza Faquim, pela dedicação e presteza e exemplo de profissional.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro através da bolsa de estudos.

À FAPESP, pelo suporte financeiro através do auxílio à pesquisa.

Aos amigos do grupo do Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal: Delci, Marquinho, Vinicius, Maranhão, Ricardo, Pedro, Leonardo, Louise, Fernanda, Amanda, Anibal e tantos outros pelo companheirismo, troca de experiências e aprendizado mútuo.

À Fundação de Estudos Agrários “Luiz de Queiroz”, por possibilitar a execução dos experimentos na Fazenda Figueira.

À todos os funcionários da Fazenda Figueira, pela colaboração na condução dos experimentos, em especial ao engenheiro agrônomo José Renato da Silva Gonçalves pelo auxílio direto na execução.

Aos amigos do grupo do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos: Ana, Cristine, Daniel, Fabiane, Fernanda, Gustavão, Mário, Michelle, Omer, Pirulão, Renato (Shimu), Rafael (Potter), Rodrigo, José Alipio pela amizade, troca de conhecimentos e momentos únicos.

Aos funcionários do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos e Caprinos: Marcos, Adilson, Joseval, Roberto, pela amizade e momentos únicos.

Aos amigos da república viola quebrada: Adenilson (Dedê), Delci (Negão), Marconi, Cesinha, Rodrigo (cowboy), Salim, Edward, Roberto, Laudi, Daniel, pela amizade, companheirismo e momentos de felicidade.

Aos amigos das repúblicas Pão de Queijo e Balako, pelos momentos de alegria, companheirismo e amizade.

Aos amigos Leandro Henrique Cruppe e Fernanda Martins de Abreu, pela receptividade, presteza, compreensão e amizade incondicional.

Aos amigos da Ohio State University: Martin, Santiago, Adnan (Mini-Mim), Dr. Marcos Coutinho, Dr^a. Tatiana Motta, Dr. Carlos Pinto, Dr. Ronaldo da Costa, Dr. Gustavo Schuenemann, Chelsey Messerschmidt, Tony Day, Martin Mussard, Gregg Fogle e tantos outros que acolheram-me com carinho, amizade e compreensão na estadia nos EUA.

Enfim, a todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, e para minha formação, meus sinceros agradecimentos, aos que por acaso esqueço de mencionar sintam-se igualmente agradecidos.

Meu muito obrigado !

EPÍGRAFE

"NÃO EXISTE UM CAMINHO PARA A FELICIDADE. A FELICIDADE É O CAMINHO"

Mahatma Gandhi

"A MENTE QUE SE ABRE A UMA NOVA IDÉIA JAMAIS VOLTARÁ AO SEU TAMANHO
ORIGINAL".

Albert Einstein

RESUMO

BIEHL, M. V. **valiação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas nelore submetidas a protocolos de sincronização**. [Evaluation of strategies to increase fertility of Nelore females submitted to synchronization protocols]. 2012. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

Três experimentos foram desenvolvidos para avaliar protocolos hormonais de sincronização de estro e ovulação em fêmeas Nelore, extratificadas nas três principais categorias de fêmeas (vacas secas, novilhas e vacas paridas) comumente encontradas nas propriedades. Os experimentos possuíam objetivos de comparar a performance reprodutiva das categorias supra citadas, sobre a taxa de detecção do estro, taxa de prenhez na IA (exp. I e II) e/ou IATF (exp III) e no repasse, de fêmeas submetidas a protocolos de sincronização do estro e ovulação. EXP I: Foram utilizadas vacas Nelore não lactantes (n=286), bloqueadas em um esquema fatorial 2x3, e receberam no D0 o CIDR e 2mg de benzoato de estradiol (BE). O CIDR permaneceu por 5 dias (D5) ou 7 dias (D7), no dia da remoção do CIDR, as vacas receberam PGF_{2α} (12,5mg, 25mg ou 50mg), formando os tratamentos: 5d12,5mg, 5d25mg, 5d50mg, 7d12,5mg, 7d25mg e 7d50mg. O estro foi detectado em 83,2% (238/286) das vacas, onde D7 (88,0%) foi superior (P<0,05) ao D5 (78,7%). Não houve diferença no tempo médio para detecção do estro que foi de 70,1 ±17,2 h. A taxa de concepção não diferiu entre os tratamentos. A taxa de prenhez à IA foi maior (P<0,05) para o D7 (54,2%) quando comparado ao D5 (39,6%). A taxa de prenhez no repasse e na prenhez total não diferiram entre os tratamentos. EXP II: Utilizou-se 407 novilhas Nelore pré-puberes, bloqueadas em um esquema fatorial 4x2, as novilhas receberam no D0 o CIDR e 2 mg de BE, o CIDR permaneceu por 5, 7, 9 ou 11 dias. No dia da remoção do CIDR, as novilhas receberam 25mg de PGF_{2α} e 300 UI eCG. Além disso metade das novilhas receberam 1 mg de BE 48 horas após a retirada do CIDR. A detecção do estro foi maior (P<0,05) para as novilhas que receberam BE (87,3%) quando comparado aos s/BE (54,6%). O tempo médio para detecção do estro foi de 68,1 ±17,3 h. A taxa de concepção não foi influenciada pelos tratamentos, porém a taxa de prenhez da inseminação da sincronização foi maior para o grupo BE (18,8%) quando comparado ao s/BE (12,4%). A taxa de prenhez final não diferiu entre os tratamentos e foi de 62,3%. EXP III: Foram utilizadas vacas Nelore lactantes (n=191), divididas em dois tratamentos: 1xPGF-5d (as vacas permaneceram com o CIDR por 7 dias, sendo que 25mg de PGF_{2α} foi aplicada no D5); 2xPGF-0/7d (as

vacas permaneceram com o CIDR por 7 dias, sendo realizadas duas aplicações de 12,5mg de PGF_{2α}, no D0 e D7). O CIDR foi retirado no D7, e aplicou-se 0,3 ml de ECP e 300 UI de eCG. Após 50 horas todas as vacas foram submetidas à IATF. No momento da inserção do CIDR 24% das vacas estavam cíclicas. O estro foi detectado em 54,45% (104/191) das vacas, sendo similar entre os tratamentos. O tempo médio para detecção do estro foi de $36,4 \pm 8,7$ h. Não houve diferença na concepção à IATF, que foi de 59,5 e 59,6% para os tratamentos 1xPGF-5d e 2xPGF-0/7d, respectivamente. A taxa de prenhez ao final da estação de monta não diferiu e foi de 82,9% para 1xPGF-5d e 86,6% para 2xPGF-0/7d. Em todos os experimentos foi realizada a detecção do estro, com o auxílio de rufiões por até 5 dias após a remoção do CIDR, sendo novamente detectado 10 dias após por um período de até 10 dias. Os animais dos exp. I e II foram inseminadas de acordo com o protocolo AM/PM. O diagnóstico de gestação foi realizado de acordo com a característica de cada experimento, mas sempre com o objetivo de identificar e quantificar a origem da prenhez (IA ou repasse). Em vacas Nelore não lactantes, a utilização de protocolos de 7 dias, possui uma performance reprodutiva melhor do que 5 dias de permanência do CIDR. Em novilhas pré-pubescentes a utilização de BE 48 horas após a remoção do CIDR, aumentou a taxa de detecção de estro, impactando diretamente no incremento da taxa de prenhez à IA. A utilização do protocolo 7d BE+CIDR, apresenta bons resultados reprodutivos, sendo que podemos reduzir o número de manejos sem o comprometimento da performance reprodutiva, realizando a aplicação de 12,5mg na inserção e na retirada do CIDR.

Palavras-chave: Vacas. Novilhas. CIDR. Prostaglandina. Puberdade. Sincronização. IATF. Nelore. IA.

ABSTRACT

BIEHL, M.V. **Evaluation of strategies to increase fertility of Nellore females submitted to synchronization protocols.** [valiação de estratégias para aumentar a fertilidade de fêmeas nelore submetidas a protocolos de sincronização]. 2012. 109 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2012.

Three experiments were designed to evaluate estrus synchronization protocols in Nellore females of three different class (dry cows, heifers and lactating cows) commonly found in properties. The experiments had aim to compare a reproductive performance of the categories mentioned above, at the estrus detection, pregnancy rate at AI (exp. I and II) or TAI (exp. III), pregnancy rate at rebreeding, of females submitted to estrus synchronization program and ovulation. EXP I: Nonlactating Nellore cows (n=286), were randomized in a 2x3 factorial arrangement. All animals received the CIDR and 2 mg of EB at D0, the CIDR remained for 5 days (D5) or 7 days (D7). At day of CIDR removal, cows received PGF_{2α} treatments (12.5mg, 25mg and 50mg), the treatments followed: 5d12.5mg, 5d25mg, 5d50mg, 7d12.5mg, 7d25mg and 7d50mg. Estrus was detected in 83.2% (238/286) of cows, where D7 (88.0%) was higher (P<0.05) than D5 (78.7%). The onset of estrus did not differ among groups and was 70.1 ± 17.2 hours. Conception rate did not differ among treatments. The pregnancy rate at AI was greater (P<0.05) for D7 (54.2%) compared to D5 (39.6%). The pregnancy rate at rebreeding and overall pregnancy did not differ among treatments. EXP II: Prepubertal Nellore heifers (n=407), randomized in a 4x2 factorial arrangement. Heifers received CIDR and 2 mg EB at D0, CIDR remained for 5, 7, 9 or 11 days. On day of CIDR removal, heifers received 25mg of PGF_{2α} and 300 IU of eCG. Half of the heifers received 1 mg of EB 48 hours after CIDR removal. Estrus detection was greater in EB (87.3%) when compared to NoEB (54.6%). The onset of estrus did not differ among treatments and was 68.1 ± 17.3 hours after CIDR removal. Conception rate was similar among treatments. The pregnancy rate at AI of synchronization was higher for EB (18.8%) compared with NoEB (12.4%). The final pregnancy rate did not differ among treatments. EXP III: Lactating Nellore cows (n=191) were randomized in two groups, 1xPGF-5d (cows received CIDR for 7 days, and 25 mg of PGF was applied on D5); 2xPGF-0/7d (cows received CIDR for 7 days, and two injections of 12.5mg of PGF, on D0 and D7). CIDR was removed on D7, and was associated with injections of 0.3 ml ECP and 300 IU of eCG. TAI was performed

50 h after CIDR removal. Estrus was detected in 54.45% (104/191), and did not differ between groups. The onset of estrus did not differ, and was 36.4 ± 8.7 hours after CIDR removal. The conception rate at TAI did not differ and was 59.5 and 59.6% for 1xPGF-5d and 2xPGF-0/7d, respectively. The final pregnancy rate at the end of breeding season did not differ and was 82.9% for 1xPGF-5d and 86.6% for 2xPGF-0/7d. All experiments were performed estrus detection with teasers for 5 days after CIDR removal, and was detected again after 10 days, and performed for 10 days. All animals of exp. I and II were inseminated according AM/PM protocol. The pregnancy diagnosis was performed according to characteristic of each experiment, but always with the goal of identifying and quantifying the origin of pregnancy (AI or rebreeding). Data were analyzed using the statistical program SAS 9.9, for binominal variables we used GLIMMIX procedure and MIXED procedure for continuous variables. In nonlactating Nellore cows, the use of protocols for 7 days, has a better reproductive performance than 5 days of CIDR. In prepubertal heifers using BE 48 hours after CIDR removal, allows for greater estrus detections and increased number of inseminations, and increasing the pregnancy rate at AI. The use of 7d EB+CIDR program yields good reproductive results, and we can reduce a number of handlings without reduce a reproductive performance.

Keywords: Cows. Heifers. Prostaglandin. Puberty. Synchronization. TAI. Nellore. AI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Padrão do desenvolvimento folicular com 2 ou 3 ondas de crescimento folicular	25
Figura 2 - Esquema gráfico para ilustrar o período de secreção de P4 e a sua relação com a frequência da secreção do LH.	27
Figura 3 - Tratamentos utilizados nas vacas	48
Figura 4 - Protocolos experimentais	49
Figura 5 - Taxa de detecção de estro nos tratamentos do Experimentais	52
Figura 6 - Taxa de detecção de estro de acordo com o tempo de permanência do CIDR	52
Figura 7 - Taxa de detecção de estro de acordo com a dose de PGF _{2α}	53
Figura 8 - Taxa de detecção do estro acumulada entre os tratamentos	54
Figura 9 - Taxa de prenhez no primeiro serviço aos 5 e 7 dias de permanência do CIDR	56
Figura 10 - Protocolos experimentais	67
Figura 11 - Taxa de detecção do estro nos protocolos experimentais com e sem a aplicação de BE	70
Figura 12 - Taxa de detecção do estro nos protocolos experimentais	70
Figura 13 - Percentual acumulado da detecção do estro nos protocolos experimentais com e sem aplicação de BE	71
Figura 14 - Taxa de prenhez total ao final da estação de monta nos tratamentos experimentais	77
Figura 15 - Protocolos experimentais	85
Figura 16 - Taxa de detecção do estro nos tratamentos	88
Figura 17 - Tempo médio para detecção do estro nos tratamentos experimentais ...	89
Figura 18 - Distribuição da detecção de estro acumulada nos tratamentos experimentais	90
Figura 19 - Taxa de prenhez na IATF de acordo com o tempo para detecção do estro e a taxa de detecção do estro	93

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Desempenho reprodutivo de vacas Brangus, tratadas com CIDR-B, Crestar ou Ovsynch, submetidas a IATF.	38
Tabela 2. Taxa de prenhez ao primeiro serviço, repasse após a IA e prenhez total nos tratamentos experimentais	58
Tabela 3. Taxas de concepção, prenhez na AI e prenhez final.....	74
Tabela 4. Taxa de prenhez nos tratamentos experimentais.....	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BE – Benzoato de Estradiol
BEN – Balanço Energético Negativo
CIDR – Control Internal Drug Release
CL – Corpo Lúteo
CS – Colheita de Sangue
DHA – Ácido Docosahexaenóico C22:6
E₂ – Estradiol
ECC – Escore de Condição Corporal
eCG – Gonadotrofina Coriônica Equina
ECP – Cipionato de Estradiol
FD – Folículo Dominante
FSH – Hormônio Folículo Estimulante
IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IM – Intra-muscular
LH – Hormônio Luteinizante
mg – Miligramas
Mhz – Megahertz
P₄ – Progesterona
PGF_{2α} – Prostaglandina F 2 alpha
UI – Unidade Internacional
US – Ultrassom

Súmario

CAPÍTULO I.....	20
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	20
1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	21
CAPÍTULO II.....	23
REVISÃO DE LITERATURA	23
2 REVISÃO DE LITERATURA	24
2.1 Regulação das ondas de crescimento folicular	24
2.2 Uso de progestágenos e estrógenos para sincronização do estro	28
2.3 Anestro Pós-parto	32
2.4 Relação entre o balanço energético Pré e no Pós-parto, Ovulação	33
2.5 Efeito do bezerro na ovulação pós-parto	35
2.6 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)	36
CAPÍTULO III.....	40
USO DE PROTOCOLOS REPRODUTIVOS ASSOCIADOS À DOSES DE PROSTAGLANDINA, SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS NELORE NÃO LACTANTES.....	40
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	43
3. INTRODUÇÃO	45
3.1 Hipóteses	46
3.2 Objetivos	46
3.3 Materiais e métodos	47
3.3.1 Localização e período experimental.....	47
3.3.2 Tratamentos.....	48

3.4 Resultados e discussão.....	50
3.4.1 Detecção do estro e ciclicidade	50
3.4.2 Taxa de concepção e taxa de prenhez	55
3.5 Conclusões	59
CAPÍTULO IV.....	60
EFEITO DO TEMPO DE PERMANÊNCIA DO DISPOSITIVO DE PROGESTERONA, ASSOCIADO À APLICAÇÃO DE BENZOATO DE ESTRADIOL, SOBRE A DETECÇÃO DE ESTRO E A TAXA DE PRENHEZ EM NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES	60
RESUMO.....	61
ABSTRACT.....	63
4 INTRODUÇÃO	64
4.1 Hipóteses	65
4.2 Objetivos	65
4.3 Materiais e métodos	66
4.4 Resultados e discussão.....	69
4.4.1 Ciclicidade e Detecção do estro	69
4.5 Taxa de concepção e prenhez.....	72
4.6 Conclusões	77
CAPÍTULO V.....	78
EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE DUAS SUB-DOSES DE PGF₂α, EM VACAS SINCRONIZADAS COM O PROTOCOLO 7D BE+CIDR	78
ABSTRACT.....	81
5 INTRODUÇÃO	82
5.1 Hipótese	83
5.2 Objetivos	83
5.3 Materiais e Métodos	83

5.3.1 Tratamentos experimentais.....	84
5.4 Resultados e discussão.....	86
5.4.1 Detecção do estro e ciclicidade	86
6.4.2 Taxa de prenhez	90
5.5 Conclusões	94
6 CONCLUSÕES	95
REFERÊNCIAS.....	96

CAPÍTULO I

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Bons índices reprodutivos são fundamentais para o sucesso da bovinocultura de corte e leite, porém determinados fatores na cadeia produtiva da pecuária de corte nacional, ainda impedem o pleno desenvolvimento. Entre estes fatores podemos citar o elevado intervalo entre partos, pouco uso da inseminação artificial (IA), e conseqüentemente a demora para a evolução genética pois muitos produtores rurais ainda utilizam touros não provados em seus rebanhos, todos estes fatores somados acarretam prejuízos na qualidade dos produtos gerados.

Segundo Sá Filho et al. (2010) a IA é considerada a principal ferramenta para o melhoramento genético dos rebanhos comerciais. Porém, a IA convencional apresenta problemas relacionados com as características fisiológicas de fêmeas bovinas zebuínas, pouca qualificação da mão de obra, rebanhos muito numerosos, falta de instalações adequadas e grandes extensões das propriedades rurais no Brasil, estes fatores diminuem a detecção de estro e dificultam os trabalhos de IA. Realizando uma análise detalhada dos processos envolvidos, podemos sugerir que a utilização da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) viabilizaria a aplicação da IA em grande escala. Proporcionando um avanço genético e desenvolvimento da pecuária nacional.

Os protocolos de IATF têm sido largamente utilizados na tentativa de maximizar o potencial reprodutivo e produtivo dos rebanhos de gado de corte, pois possibilita a inseminação de vacas sem a detecção de estro. Sendo o CO-Synch associado a uma fonte exógena de Progesterona (P_4) o protocolo mais utilizado nos EUA, obtendo taxas de gestação que variam de 30 a 65% (KASIMANICKAM et al., 2006; BRIDGES et al., 2010).

No Brasil os protocolos de sincronização de estro em vacas de corte, normalmente utilizam o estradiol no início e no final do protocolo de sincronização, pois ao contrário dos Estados Unidos, o uso de estradiol no Brasil é liberado, acarretando assim uma redução no custo do protocolo quando comparado à utilização do GnRH, sem que haja redução nos índices reprodutivos.

Nesse sentido busca-se através da melhora do manejo reprodutivo, uma adequada utilização de substâncias farmacológicas em protocolos reprodutivos, os quais proporcionem uma correta sincronia dos estros, boas taxas de fertilidade, racionalização da mão de obra empregada e do manejo dos animais e obviamente com melhor retorno financeiro. Posto isto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos da sincronização do estro em fêmeas zebuínas com protocolos que variaram de 5 à 11 dias de permanência do CIDR, sobre a ciclicidade, indução da puberdade, taxa e o tempo para detecção do estro, índices de prenhez à IATF e no repasse.

CAPÍTULO II

REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

O controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação de vacas de corte depende primeiramente do entendimento do comportamento fisiológico reprodutivo da vaca, o qual está ligado diretamente com seu estado nutricional e condição reprodutiva (parida ou solteira). Neste sentido, as interações e funções de hormônios aplicados para este fim, requerem compreensão e análise do seu funcionamento e necessidade fisiológica.

2.1 Regulação das ondas de crescimento folicular

O período que compreende dois estros consecutivos, envolvendo crescimento dos folículos ovarianos é denominado como um ciclo estral que tem duração entre 18 à 24 dias, com um intervalo médio de 21 dias.

O desenvolvimento do ciclo estral e consequente 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” (BINELLI, 2000). Um folículo ovariano consiste de um oócito envolvido por várias camadas de células granulosas e tecaais. Morfologicamente, o desenvolvimento folicular envolve um aumento no diâmetro do oócito com a proliferação sincronizada das células granulosas, assim como o aumento do fluido folicular preenche o antrum (DAY et al., 2010b). O desenvolvimento folicular inicia a partir do folículo primordial, que é caracterizado por uma camada simples de células granulosas achatadas. Com o desenvolvimento, esse folículo adquire mais camadas de células granulosas e com o formato cuboide.

Com o desenvolvimento do folículo primário, este atinge a fase de folículo secundário, na qual ocorre a formação da zona pelúcida em torno do oócito. Com a continuação do desenvolvimento do folículo, ocorre a formação da cavidade

folicular (cavidade antral) que ocorre na transição de folículo secundário para terciário. Com o aumento da cavidade folicular, o folículo terciário é denominado de folículo antral ou dominante (FD). É durante essa fase que o folículo adquire a capacidade de ovular se for exposto ao pico de LH. O folículo grande (folículo pré-ovulatório preenchido com fluido) é denominado folículo Graafiano, em homenagem a Regnier Graaf, que foi o primeiro a descrever o folículo antral em coelhas (DAY et al., 2010a).

Em bovinos, esse desenvolvimento progressivo do folículo dominante ocorre em um processo cíclico que tem sido denominado de onda folicular (BO et al., 1995). Durante cada fase do ciclo estral em bovinos, 2 ou 3 ondas foliculares podem ocorrer. Entretanto, tem sido observado que os animais podem desenvolver somente 1 ou até 5 ondas foliculares (Figura 1). O número de ondas foliculares durante o ciclo estral influencia o comprimento desse ciclo em bovinos. A quantidade de ondas foliculares está diretamente relacionada com o status nutricional do animal, estresse pelo calor e raça (ADAMS et al., 2008).

Figura 1 - Padrão do desenvolvimento folicular com 2 ou 3 ondas de crescimento folicular

Fonte: (Adaptado de ADAMS et al., 2008).

Em um estudo com vacas e novilhas Nelore realizado por Figueiredo et al. (1997), encontraram que o ciclo estral possui uma duração de 20,7 e 22 dias para animais que apresentem duas (vacas com 83,3% de frequência) ou três (novilhas com 64,7% de frequência) ondas foliculares, respectivamente. Sartori et al. (2004), encontraram resultados semelhantes quando trabalharam com a raça holandesa. Em contra partida estudos recentes com novilhas Nelore e vacas Gir, foram encontrados a predominância de três ondas foliculares no ciclo estral (VIANA et al., 2000; SARTORELLI et al., 2005; MOLLO et al., 2007).

Durante o ciclo estral uma onda de folículos emerge entre os dias 1 e 3 após o estro. São geralmente, em torno de 10 à 50 folículos neste grupo com o tamanho de 2 à 3 mm cada. Nos dias subsequentes, parte desses folículos crescem para 4 à 6 mm, sendo que 2 à 5 folículos maiores do grupo continuarão a crescer enquanto que os outros regredem (BO et al., 1994,1995).

Aumentando-se a concentração de FSH, ocorre estímulo para o recrutamento dos folículos primários nos ovários. Esses folículos recrutados são dependentes do FSH para a continuidade do crescimento e desenvolvimento. Após o recrutamento dos folículos, um deles (na maioria das vezes) é selecionado e adquire a dominância. O desenvolvimento do folículo dominante é dividido em 3 fases: fase de crescimento, estática e de regressão, sendo que morfológicamente, ele se torna dominante quando atinge 8,5 mm de diâmetro. Várias mudanças funcionais ocorrem no folículo quando ele se torna dominante. Com a continuidade do crescimento do FD, diminui a sua dependência ao FSH mas adquire a dependência ao LH. Uma vez que o FD é selecionado, aumenta sua produção de estradiol, induzindo um decréscimo da concentração de FSH, através do feedback negativo e da inibição da transcrição da activina na hipófise anterior, a qual se faz necessária para a síntese de FSH. Essa produção de estradiol e inibina, reduz a concentração do FSH a níveis insuficientes para que haja um novo recrutamento, porém suficiente para o crescimento de folículos subordinados. A retirada deste FD, seja ela por atresia ou ablação, resulta na retirada dos efeitos do estradiol e inibina, ocorrendo um aumento dos níveis de FSH e consequentemente o recrutamento de uma nova onda dentro de 48 horas (BURKE et al., 2003).

Durante a fase lútea (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 (figura 2), e por esta razão não ocorre ovulação (FORTUNE, 1994).

O FD possui dois destinos naturais, sofrer atresia ou ovular. Ele sofrerá atresia quando a concentração de progesterona encontrar-se elevada, pois esta em associação com o estradiol produzido pelo folículo não serão capazes de induzir um pico de LH. Por sua vez se ocorrer a luteólise as concentrações de P_4 , estarão reduzidas e o estradiol produzido pelo FD agirá no centro do pico pré-ovulatório para liberação do LH (hipotálamo), liberando um pico de GnRH, que por sua vez agirá sob a hipófise anterior, desencadeando um pico de LH, este necessário para que haja a ovulação (GARCIA-WINDER et al., 1984; DAY et al., 2010b). Nas observações de Jolly et al. (1994) o LH estimulou o AMPc (AMP cíclico) em células da granulosa somente em folículos com mais de 9 mm de diâmetro, provando então que folículos com mais de 9 mm de diâmetro adquirem receptores para LH e proporcionando assim capacidade ovulatória.

Figura 2 - Esquema gráfico para ilustrar o período de secreção de P_4 e a sua relação com a frequência da secreção do LH. Ciclo com três ondas (esquerda) e ciclo com duas ondas (direita).

Fonte: (BO et al., 2000).

2.2 Uso de progestágenos e estrógenos para sincronização do estro

O nome progestágenos é utilizado para substâncias farmacológicas de efeitos similares a progesterona (P_4). Quimicamente o norgestomet (17α acetoxi- 11β -metil-19-norpreg-ene-20, dione) resulta da modificação do 19-norprogesterone e tem demonstrado ser um progestágeno altamente ativo biologicamente (KESLER, et al., 1995). Dentro destes compostos pode-se citar os progestágenos de uso oral, como o Acetato de Melengestrol ($MGA^{\circledR}$), os implantes subcutâneos de Norgestomet (Syncro-Mate-B $^{\circledR}$ e Crestar $^{\circledR}$) e os dispositivos com progesterona (CIDR $^{\circledR}$ e PRID $^{\circledR}$) (AMARAL et al., 2010)

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 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, neste momento, 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).

A aplicação de benzoato de estradiol (BE), juntamente com a inserção do dispositivo intravaginal de progesterona, é capaz de sincronizar a emergência de nova onda de crescimento folicular, a qual se inicia cerca de 3 a 4 dias após. Quando o estradiol é aplicado na ausência de progesterona (após a retirada do dispositivo), haverá indução de pico de LH e ovulação, caso haja presença de um folículo com maturidade suficiente (SÁ FILHO et al., 2010). O uso de estradiol após um curto período de exposição a 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 h após a remoção do implante resultou na sincronização do estro em 98% das vacas tratadas e 70% de concepção na primeira IA após a detecção do cio.

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 5 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 foi feita 24 horas após a aplicação do mesmo GnRH.

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 houve 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), isso mostra uma vantagem em se usar hormônios para tornar mais preciso o pico de LH, e conseqüentemente uma melhor sincronia da ovulação, onde fêmeas *Bos taurus indicus* apresentam maior sensibilidade a gonadotrofinas exógenas (CAVALIERI et al., 1997).

É possível, portanto, 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).

Quando o “feedback” negativo da progesterona é removido seja espontaneamente ou pela indução da luteólise, aumenta a secreção pulsátil de LH e a esteroidogenese pelo folículo. As vacas com um pro-estro longo tiveram um aumento precoce de estradiol (logo após a administração de Prostaglandina), e uma concentração maior de estradiol no momento da aplicação do GnRH, quando comparado com as vacas que tiveram um proestrus curto, embora o diâmetro do folículo ovulatório não diferiu entre os tratamentos (BRIDGES et al., 2004; 2010). Neste mesmo estudo, as vacas com mais do que 10 pg/ml de estradiol circulante no momento da aplicação do GnRH tiveram uma maior taxa de concepção do que as com menos de 10 pg/ml de estradiol. Resultados semelhantes foram encontrados por (PERRY et al., 2003).

Para aumentar a produção de estradiol pelo folículo ovulatório, a regressão induzida do CL logo após a emergência da onda folicular pode ser mais benéfica do que os típicos programas de sincronização. Com base nestas informações Sá Filho et al. (2010) avaliaram os efeitos da progesterona no protocolo de sincronização do estro em 35 novilhas Nelore/Angus, onde a única diferença entre os protocolos foi a aplicação da PGF_{2α} 48 horas antes da retirada do CIDR ou no momento da retirada. Todos os animais receberam 0.8 mg de BE 24 h após a retirada do dispositivo e foram submetidos a IATF após 36 h, onde apresentaram uma taxa de concepção que tendeu (64.7% vrs. 38.9) para vacas que receberam a PGF_{2α} 48 h antes da retirada do dispositivo. Os autores citam que provavelmente graças a antecipação da luteólise que levou à uma redução dos teores de progesterona, aumento da pulsatilidade de LH, manutenção do crescimento do FD, aumento do folículo ovulatório, maior taxa de ovulação e maior diâmetro no CL formado. Vale ressaltar que estes resultados foram encontrados em animais cíclicos, pois em animais em

anestro esta antecipação da dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$, não apresenta resultados, pois os animais não possuem um CL durante o tratamento (SÁ FILHO et al., 2010).

Os dados de Valdez et al. (2005) suportam esta afirmação indicando que no dia 4 após a emergência, os folículos dominantes aumentam o estradiol intrafolicular e a capacidade enzimática para produzir estradiol quando comparado aos folículos dominantes mais velhos (dia 6 a 8). Consequentemente, removendo o “feedback” negativo do folículo dominante mais cedo na onda folicular, pode resultar no aumento da secreção de estradiol pelos folículos menores mas esteroidogenicamente mais ativos. Garantir uma adequada concentração pré-ovulatória de estradiol, pode ser tão crítico quanto diminuir a secreção pré-ovulatória do estradiol pelo folículo ovulatório para induzir a ovulação, que pode alterar a morfologia do endométrio uterino e reduzir a habilidade do útero para secretar o “leite uterino” (líquido produzido pelo endométrio rico em carboidratos), e mudar a resposta de outros sinais endócrinos. Adicionalmente, o estradiol pré-ovulatório serve para estabelecer receptores para progesterona no útero, o qual é a chave para os processos fisiológicos para permitir uma apropriado secreção pelas glândulas endometriais para garantir a sobrevivência do embrião em resposta ao aumento da concentração de progesterona luteal.

Quando a progesterona diminui no início da fase de crescimento do folículo ovulatório, ocorre rápido aumento na secreção de LH pulsátil e aumenta a probabilidade de concepção devido ao aumento da estimulação da esteroidogênese ou outras ações sobre o folículo pré-ovulatório e/ou útero. Existem outras evidências para suportar a teoria de que a regressão precoce do CL irá aumentar a fertilidade. Tem-se demonstrado que no dia 8, o programa Benzoato de estradiol + CIDR utilizado em vacas de corte após o parto, mais a aplicação de prostaglandina no 4º dia do CIDR aumenta a fertilidade de receptoras utilizadas em programas de transferência de embriões, quando comparado com vacas que recebem prostaglandina no dia 8 (MORENO et al., 2002). O princípio deste estudo foi que a luteólise precoce pode criar um baixo teor de progesterona (a única progesterona presente é a do CIDR), assim como um alto teor de LH e com isso aumentar o desenvolvimento folicular. Da mesma maneira, Tribulo et al. (2002) tratou vacas de corte com 400 UI de eCG no 5º dia de um programa de 8 dias CIDR + Benzoato de estradiol, para aumentar exogenamente a estimulação gonadotrófica do folículo ovulatório. A taxa de prenhez destas vacas quando usadas receptoras em

programas de transferência de embriões foi aumentada em relação as vacas que não receberam eCG. A aplicação de eCG na remoção do CIDR também tem mostrado melhora na taxa de prenhez assim como aumento na secreção de progesterona pelo CL desenvolvido (BARUSELLI et al., 2004). Estes resultados evidenciam que o aumento da gonadotrofina suporta o folículo ovulatório para aumentar a fertilidade.

2.3 Anestro Pós-parto

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

A duração do anestro pós-parto é influenciada principalmente por fatores como: balanço energético, presença do bezerro. Influem também a raça, presença de touro, gemelaridade, distocia e retenção de placenta (YAVAS; WALTON, 2000a).

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

2.4 Relação entre o balanço energético Pré e no Pós-parto, Ovulação

Além da energia, o consumo excessivo ou deficiente de outros nutrientes, como proteína, vitaminas, macro e micro minerais, têm sido relacionados com o baixo desempenho reprodutivo. O manejo nutricional, principalmente em animais a pasto, é determinante para assegurar consumo adequado de nutrientes. Dentre os diversos fatores de manejo da produção animal a pasto, a taxa de lotação destaca-se por ser diretamente relacionada com a relação de suprimento e demanda de nutrientes do rebanho.

A nutrição é o maior fator que afeta a eficiência reprodutiva das vacas de corte. Um tempo longo de restrição alimentar moderada ou crônica, resulta na diminuição gradual da taxa de crescimento do FD, seu diâmetro máximo e persistência. Os animais entram em anestro quando perdem em média 24% do peso corporal inicial (DISKIN et al., 2003). Os mesmos autores afirmam que a restrição alimentar de novilhas em 40% da exigência para manutenção, acarreta em severos impactos no desenvolvimento do FD e induz anestro em 60% das novilhas submetidas a restrição por 15 dias.

Crescimento folicular sem ovulação ocorre em vacas de corte no pós-parto que apresentam baixo escore de condição corporal (< 5, escala de 1 - 9). Um exemplo prático dessa deficiência é o prolongamento do intervalo entre o parto até a primeira ovulação prejudicando também a concepção (BOLAND et al., 2001).

Um longo tempo de restrição alimentar tem mostrado induzir o anestro em vacas de um modo geral, onde se observou conjuntamente nesses animais insuficiência de LH circulante (RICHARDS et al., 1986; RANDEL 1990; SHORT et al., 1990; WILLIAMS, 1990; DUNN; MOSS, 1992; SCHILLO, 1992; RHODES et al., 1995). Esses efeitos não são imediatamente evidentes, mas a restrição dietética por vários meses pode inibir o crescimento folicular e ovulação (BOLAND et al., 2001).

O Balanço Energético Negativo (BEN) reduz a disponibilidade de glicose e aumenta a mobilização de reservas corporais (BUTLER & SMITH, 1989; BUTLER, 2000). O metabolismo basal, crescimento e reservas de energia basal têm prioridade sobre processos reprodutivos, como o restabelecimento da ciclicidade e o estabelecimento e manutenção de nova gestação (SHORT et al., 1990).

Segundo Perry et al. (1991), vacas múltiparas que receberam menores teores de energia no período pré-parto tiveram maior intervalo entre o parto e a primeira ovulação. Resultados semelhantes foram obtidos com animais de primeira cria por Bellows e Short (1978), que ao trabalharem com vacas mestiças Angus x Hereford observaram maior intervalo entre parto e primeiro estro nos animais alimentados com dieta de baixa energia pré-parto.

O restabelecimento tardio da ovulação (após 40 dias) em vacas de corte pode ser causado pela amamentação do bezerro e/ou por um período prolongado de inadequado balanço energético. Assim sendo, vacas com condição corporal menor que 5, podem ter mais de 14 ondas de crescimento folicular antes de uma efetiva ovulação no pós-parto (DRIANCOURT, 2001). A ingestão de energia ou proteína bruta deficiente no período pré-parto, tanto quanto no pós-parto, reduz os conteúdos de gonadotrofinas na pituitária (evidenciado por uma baixa responsividade ao GnRH exógeno), com consequente demora do restabelecimento da pulsatilidade de LH e prolongamento do anestro no pós-parto (YAVAS; WALTON, 2000b).

A liberação pulsátil de LH em vacas de corte recomeça por volta dos 25 a 32 dias pós-parto. O restabelecimento da pulsatilidade de LH resulta em um gradual aumento na concentração de LH circulante em vacas de corte. Devido ao aumento nos pulsos de LH preceder a própria onda de LH pré-ovulatória e consequente ovulação em vacas cíclicas, têm-se sugerido que o restabelecimento da pulsatilidade de LH é também um pré-requisito para o aparecimento da ciclicidade com ovulação no pós-parto (YAVAS; WALTON, 2000 b).

A avaliação do Escore de Condição Corporal (ECC) ao parto foi realizado no estudo de Sinclair et al., (2002), onde os autores concluíram que o ECC foi mais eficaz que a ingestão de matéria seca no pós-parto, para determinar o retorno a ciclicidade de vacas de corte.

Henao et al. (2000) mostraram que vacas Brahman no pós-parto, amamentando e não amamentando, sob condições de pastejo, tiveram um crescimento folicular diferente no número de ondas (2 a 3 para amamentando e 1 a 2 para não amamentando). Neste sentido, as vacas que não amamentavam possuíam um ECC maior em relação as que amamentavam, por isso acredita-se que esse pode ser o principal motivo para apresentarem a ovulação no pós-parto

mais cedo do que o outro grupo que amamentava, já que este apresentou ovulação no pós-parto quando houve aumento no seu ECC.

No padrão de desenvolvimento folicular, vacas de corte em dietas com altos teores de energia e outras com dietas apenas para manutenção (150 e 100% respectivamente, dos requisitos do ARC 1980), foi constatado que o problema do anestro prolongado nas vacas, foi devido à falha na ovulação do folículo dominante e não falhas no seu desenvolvimento (STAGG et al., 1995).

Segundo Sá Filho et al. (2010), o déficit no consumo de energia é a causa predominante do atraso à atividade reprodutiva nos rebanhos de cria brasileiros e esses efeitos são mais acentuados quando ocorrem na fase final da gestação. Vacas magras ao parto apresentam intervalos mais longos até o primeiro estro e ovulação pós-parto, em decorrência da maior sensibilidade hipotalâmica ao feedback negativo do estradiol, culminando com secreção de pulsos de LH insuficientes para manter o crescimento folicular, podendo se estender por mais de 100 dias.

Tais observações podem levar a crer que induzindo mecanismos que provoquem a liberação ("Feedback" positivo) de LH podem tornar presente e um pouco mais precisa a ovulação, situação a qual se busca com o controle farmacológico do ciclo estral e ovulação. Esquemas propostos com a aplicação de hormônios podem estimular e tornar mais eficaz tal liberação de LH (YAVAS; WALTON, 2000a).

2.5 Efeito do bezerro na ovulação pós-parto

Segundo Bo et al. (2000) o controle da mamada durante algumas horas do dia ou até mesmo por dias provocou aumento das concentrações circulantes de LH e adiantou o desenvolvimento do folículo dominante e o aparecimento do estro.

A ausência de pulsos de LH no pós-parto imediato é independente da sucção do bezerro e ocorre mediante a depleção das reservas de LH na hipófise anterior. Após o restabelecimento das reservas de LH na pituitária anterior, a ausência de pulsos de LH torna-se dependente da sucção. Vacas com desmame completo, temporário (48 a 96 horas) ou parcial (mamadas restritas duas a três vezes por dia) apresentam aumento da frequência dos pulsos de LH e, com o retorno dos

bezerros, os pulsos e a concentração de LH diminuem. O comportamento materno é mais importante que o ato da sucção em si para regular a frequência de pulsos de LH (SÁ FILHO et al., 2010). Isso pode ocorrer, pois um mecanismo de percepção inguinal na vaca provocado pela presença do bezerro durante a mamada provoca a liberação de opióides endógenos hipotalâmicos, onde estes suprimem a pulsatilidade de LH com consequente falha na ovulação prolongando o anestro (YAVAS; WALTON, 2000b).

A ingestão insuficiente de energia está correlacionada com menor desempenho reprodutivo. Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação, vacas leiteiras e de corte passam por período de Balanço Energético Negativo (BEN) por não consumirem quantidades suficientes de energia para atingir as exigências de manutenção e produção (PIRES et al., 2010).

2.6 Inseminação artificial em tempo fixo (IATF)

A Inseminação Artificial (IA) é uma biotecnica reprodutiva que quando aplicada na propriedade proporciona a utilização de touros provados o uso deste artifício pode aumentar o mérito genético da prole, e no futuro do próprio rebanho. Esse aumento do mérito genético pode ser traduzido na redução do tempo até as novilhas atingirem a puberdade, maior ganho de peso dos animais destinados ao abate, etc. Por muitos anos vem se discutindo e estudando a melhor maneira de se empregar a IA em grandes rebanhos de corte. Infelizmente ainda deparamos com dificuldades como: distancia dos piquetes até o curral de inseminação, tamanho dos pastos ou piquetes ou a própria dimensão das fazendas, falhas na detecção de cio, falta de profissionalização de funcionário e outros mais (SÁ FILHO et al., 2010).

Prolongando-se o intervalo para a IA após o parto, resultante de inadequada taxa de detecção de estro, prolonga o intervalo entre partos. Estes fatores são altamente correlacionados: redução em um dia no intervalo parto-primeira IA reduz o intervalo entre partos em 0,86 dias (VASCONCELOS, 1998).

A detecção visual do estro depende de vários fatores como: conhecer realmente os sinais do animal em cio, tempo gasto para a observação, horário da IA e especialização e dedicação da mão de obra destinada ao serviço. O tempo gasto

para a observação do estro pode ser citado como um fator de extrema importância, portando pode-se concluir que quanto mais vezes e por mais tempo se observar estro maior seria a taxa de detecção de estro. Porém, maior seria a ocupação da mão de obra dispensada por um longo período. Em fêmeas zebuínas, a curta duração do estro (cerca de 11 horas) associada a alta incidência de cios noturnos (30 a 50%) dificultam a detecção do cio e prejudicam a implantação a implantação de programas convencionais de IA (BARROS et al., 2000).

As principais vantagens da utilização da IA são: controle na qualidade do sêmen utilizado (centrais idôneas) precisão nas informações e registros dos eventos de coberturas, bem como informações confiáveis quanto à paternidade e origem dos produtos, proporcionando então uma melhora no sistema produtivo como um todo e ainda melhorando a qualidade e quantidade dos animais produzidos através desta tecnologia, principalmente com vistas atualmente a necessidade de identificação e rastreabilidade do animal que se destinara ao abate.

A manutenção de cada touro no rebanho custa aproximadamente o equivalente a cinco doses de sêmen por vaca reproduzindo (FERRAZ, 1996). Este valor citado pode sofrer variação, se considerarmos a fertilidade, libido e doenças sexualmente transmissíveis, estas as quais podem ser evitadas, ou mesmo controladas com a utilização da IA (JESUS; GABRIEL, 1998).

Nos últimos tempos com o avanço tecnológico da pecuária tem se empregado a utilização de tempo fixo para a inseminação artificial. O processo se resume em determinar o dia que um lote de vacas serão inseminadas. Com este avanço se reduz a estação de monta em um menor número de dias, não se perde com a falha na detecção de cio, pois não há, e parte do trabalho é reduzido a alguns dias, diminuindo também o número de touros utilizados na estação de monta.

A IATF permite que um grande número de fêmeas possam emprenhar logo no início da estação. Pois todas as vacas com idade pós parto superior a 40 dias estão aptas a serem sincronizadas.

Atualmente existem inúmeros tipos de protocolos de sincronização, normalmente os protocolos para vacas zebuínas, possuem a base em uma fonte de progesterona, associado a utilização de fontes de estradiol (benzoato e cipionato de estradiol), prostaglandina (Dinoprost Trometamina, Clopostenol) e Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG). A utilização dos protocolos de sincronização possibilitam

que um grande número de animais emprenhem logo no início da estação de monta, como pode ser observado em um trabalho realizado por Baruselli et al. (2002) (Tabela 1).

Tabela 1 - Desempenho reprodutivo de vacas Brangus, tratadas com CIDR-B, Crestar ou Ovsynch, submetidas a IATF, no início da estação de monta

Grupo	Primeiro dia da estação de monta(EM)	Período de monitoramento na EM (45 d)/ Detecção de estro e IA			90 dias de EM (IA + touro)
	Taxa de Prenhez na IATF	Taxa de serviço	Taxa de Concepção	Taxa de prenhez	Taxa de prenhez
Controle	-	23.4(22/94) ^c	81.8(18/22)	19.1(18/94) ^e	80.9(76/94)
CIDR	52.0(52/100) ^a	45.8(22/48) ^d	68.2(15/22)	67.0(67/100) ^f	79.0(79/100)
Crestar	42.7(44/103) ^a	44.1(26/59) ^d	80.8(21/26)	63.1(65/103) ^f	88.3(91/103)
Ovsynch	15.0(15/100) ^b	32.9(28/85) ^{cd}	82.1(23/28)	38.0(38/100) ^g	85.0(85/100)

Fonte: (adaptado de Baruselli et al., 2002)

Sá Filho et al. (2010), analisaram os dados de 7.527 vacas de corte sincronizadas com o protocolo de 9 dias de permanência do dispositivo de progesterona, sendo que a aplicação de PGF_{2α} (12 mg dinoprost), foi realizada 48 horas antes da remoção do dispositivo (Figura 3). A taxa de concepção média na IATF foi de 48.9% (3.681/7.527), sendo que a taxa de concepção foi influenciada pelas variáveis: categoria animal, raça e ECC. A taxa de concepção foi diferente para vacas secas, primíparas e múltiparas, sendo de 39.4% (137/348), 46.3 (937/2.022) e 50.5% (2.607/5.157), respectivamente. Vacas oriundas de cruzamento ($\frac{1}{2}$ *Bos taurus taurus* x $\frac{1}{2}$ *Bos taurus indicus*) apresentaram maior taxa de concepção quando comparadas a vacas *Bos taurus taurus* e Nelore [62.3% (964/1547), 53.0% (150/283) e 45.1% (2567/5697)]. Vacas com menor ECC apresentaram menor taxa de concepção na IATF [ECC 2.5: 41.9% (687/1638), ECC 2.75: 50.3% (831/1653), ECC 3.0: 49.4% (1006/2035), ECC 3.25: 49.2% (386/785), ECC 3.5: 54.5% (771/1416)]. Já a reutilização do dispositivo por até duas vezes não afetou a taxa de concepção.

Trabalhos com a utilização da IA em tempo fixo estão sendo desenvolvidos para melhorar a eficiência de protocolos e produtos comerciais já existentes, porém ainda existem dúvidas sobre qual metodologia ou controle hormonal seria mais adequado. Pesquisas as quais possam contribuir para se aumentar e aperfeiçoar a

técnica devem existir, possibilitando então uma ampla e segura utilização desta tecnologia e com custos mais baixos.

CAPÍTULO III

**USO DE PROTOCOLOS REPRODUTIVOS ASSOCIADOS À DOSES DE
PROSTAGLANDINA, SOBRE O DESEMPENHO REPRODUTIVO DE VACAS
NELORE NÃO LACTANTES**

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi comparar a performance reprodutiva de vacas Nelore não lactantes (n=286), sincronizadas com os protocolos de 5 ou 7 dias do tempo de permanência do CIDR+BE e três doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$. As vacas foram bloqueadas de acordo com o peso ($363,9 \pm 39,07$ Kg) and ECC ($2,55 \pm 0,16$, escala de 1 a 5) em um esquema fatorial 2 x 3. Os animais receberam 2 mg de BE no momento da inserção do CIDR®, que permaneceu por 5 dias (D5) ou 7 dias (D7). No dia da remoção do CIDR, as vacas receberam os tratamentos 12,5 mg, 25 mg ou 50 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$ por via intramuscular profunda. Desta maneira os tratamentos foram **5d12,5mg** (n = 50); **5d25mg** (n = 46); **5d50mg** (n = 48); **7d12,5mg** (n = 48); **7d25mg** (n = 48) e **7d50mg** (n = 46). A detecção do estro foi realizada por 120 horas após a remoção do CIDR, e a inseminação artificial foi realizada de acordo com o protocolo AM/PM. Após 16 dias da inseminação realizou-se novamente a detecção de estro por 10 dias, e as vacas que apresentaram estro foram novamente inseminadas seguindo o mesmo protocolo AM/PM. O diagnóstico de gestação foi realizado através da ultrassonografia 60 dias após a primeira inseminação artificial. O estro foi detectado em 238/286 das vacas (83,2%), não foi verificado efeito significativo no aparecimento do estro entre os tratamentos $\text{PGF}_{2\alpha}$ e na interação ($\text{PGF}_{2\alpha} \times \text{CIDR}$). Porém, o tempo de permanência do CIDR apresentou diferença significativa quando comparados D7 (88,03%) ao D5 (78,07%). O tempo médio para o aparecimento do estro não diferiu entre os tratamentos e foi de $70,1 \pm 17,3$ h após a remoção do CIDR. Não houve diferença significativa ($P>0,05$) na taxa de concepção. A taxa de prenhez ao primeiro serviço foi maior ($P<0,05$) no D7 (54,2%) quando comparado ao D5 (39,6%) de permanência do CIDR. Ainda na taxa de prenhez ao primeiro serviço não houve efeito ($P>0,05$) da interação entre o tempo de permanência do CIDR e a $\text{PGF}_{2\alpha}$, e as médias foram 36,0, 41,3, 41,7, 62,5, 58,3 e 41,3 para os tratamentos 5d12,5mg, 5d25mg, 5d50mg, 7d12,5mg, 7d25mg e 7d50mg, respectivamente. A taxa de prenhez no repasse não diferiu ($P>0,05$) entre o tempo de permanência do CIDR, e as médias foram 34,0% para 5d e 19,0% para 7d (19,0%); Não houve diferença entre tratamentos $\text{PGF}_{2\alpha}$ e interação. A taxa de prenhez total não diferiu entre

tratamentos e foi de 68,0, 76,1, 77,1, 85,4, 72,9 e 60.9 para os tratamentos 5d12,5mg, 5d25mg, 5d50mg, 7d12,5mg, 7d25mg e 7d50mg, respectivamente. Em protocolos BE+CIDR, em que 2 mg de BE são aplicados no momento da inserção do CIDR, a performance reprodutiva foi melhor quando utilizou-se 7 dias comparado a 5 dias de permanência do CIDR.

Palavras-chave: Vacas Nelore. Prostaglandina. CIDR. Sincronização.

ABSTRACT

The objective was to compare reproductive performance of non-lactating Nelore cows (n=286) in which estrus was synchronized using either a 5 or 7 d EB+CIDR based protocol and 3 doses of PGF_{2α}. Cows were blocked according to body weight ($363,9 \pm 39,07$ Kg) and BCS (2.55 ± 0.16 , scale of 1 to 5) in a 2 x 3 factorial arrangement. Cows received 2 mg EB at the time of CIDR[®] insertion, which was 2 d to achieve either 5 (5d) or 7 (7d) of CIDR treatment. At CIDR removal, cows received 12.5, 25 or 50 mg PGF_{2α}. Therefore, treatments were **5d12.5mg** (n=50; e.g. 5 d CIDR treatment and 12.5 mg PGF_{2α}); **5d25mg** (n=46); **5d50mg** (n=48); **7d12.5mg** (n=48); **7d25mg** (n=48); and **7d50mg** (n=46). Estrus detection was performed for 120 hours after CIDR removal and artificial insemination (AI) was performed according to the AM/PM protocol. Sixteen days after CIDR removal, estrus detection was again performed for 144 hours and cows that showed estrus were AI. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography 60 days after the first AI. Overall, estrus was detected in 238/286 cows (83.2%). A main effect of duration of CIDR treatment indicated that more ($P < 0.05$) cows were detected in estrus across the 7d (88.03%) than 5d (78.07%) treatments. Mean time of onset of estrus did not differ among treatments and was 70.1 ± 17.3 h after CIDR removal. Conception rate did not differ ($P > 0.05$) among treatments. Pregnancy rate at first service was greater ($P < 0.05$) for treatment 7d (54.2%) compared to treatment 5d (39.6%). A CIDR x PGF_{2α} dose interaction was detected in pregnancy rate at first service, with the highest ($P < 0.05$) pregnancy rates detected in the 7d12.5mg (62.5%) treatment and the lowest detected in the 5d12.5mg (36.0%) treatments, but was similar to treatments 5d25mg (41.3%), 5d50mg (41.7%), 7d25mg (58.3%) and 7d50mg (41.3%). Pregnancy rate at rebreeding was different between 5d (34.0%), 7d (19.0%) treatment. There was no difference in the CIDR x PGF_{2α} interaction. Total pregnancy rate did not differ among treatments and were 68.0%, 76.1%, 77.1%, 85.4%, 72.9% and 60.9 % for treatments 5d12.5mg, 5d25mg, 5d50mg, 7d12.5mg, 7d25mg and 7d50mg respectively. In an EB+CIDR synchronization protocol that included 2 mg EB at the time of CIDR insertion, reproductive performance was higher with a 7 than 5 d CIDR treatment.

Keywords: Nellore Cows. Prostaglandin. CIDR. Synchronization.

3. INTRODUÇÃO

Os protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) têm sido largamente utilizados na tentativa de maximizar o potencial reprodutivo e produtivo dos rebanhos de gado de corte. Sendo o CO-Synch associado a uma fonte exógena de progesterona (P_4) o protocolo mais utilizado nos EUA, obtendo taxas de gestação que variam de 30 a 65% (BRIDGES et al., 2010). Para realização deste protocolo utiliza-se a aplicação do Hormônio Liberador de gonadotrofinas (GnRH) para controle da dinâmica folicular no ovário, de prostaglandina ($PGF_{2\alpha}$) para luteólise e uma segunda aplicação de GnRH para induzir a ovulação. No intervalo que compreende o primeiro GnRH e a $PGF_{2\alpha}$, faz-se o uso de uma fonte exógena de P_4 pelo período de 7 dias (BRIDGES et al., 2010).

Nos Estados Unidos um dos fatores que tem impacto na taxa de gestação do CO-Synch + P_4 é o tempo de permanência da fonte exógena de P_4 no animal. Neste sentido têm sido desenvolvido um CO-Synch+ P_4 reduzindo de 7 dias (7CO-Synch) para 5 dias (5CO-Synch) dias o tempo de permanência do dispositivo (BRIDGES et al., 2008; WHITTIER et al., 2010). Sendo que o alongamento do proestro tem sido relacionado com maiores taxas de prenhez devido ao aumento nas concentrações de estradiol nos folículos, melhorando a fertilidade depois da ovulação induzida pelo GnRH (BRIDGES et al., 2008; KASIMANICKAM et al., 2009; WHITTIER et al., 2010).

Porém, com a utilização do primeiro GnRH como sincronizador do crescimento folicular, muitas vezes quando o ovário possui um folículo dominante, ocorre um pico de LH, ocasionando a ovulação deste folículo e posterior formação de um CL, este por sua vez terá um menor índice luteólise, reduzindo assim a qualidade da luteólise em resposta a uma aplicação única de $PGF_{2\alpha}$ no momento da retirada do CIDR, reduzindo assim a qualidade da luteólise em resposta (KASIMANICKAM et al., 2009; WHITTIER et al., 2010). Trabalhos tem sido realizados para verificar o efeito do tempo para aplicação de $PGF_{2\alpha}$ após a remoção do CIDR, estes variam de 12 a 3 horas, sendo que ainda existe uma certa divergência entre os pesquisadores. Cruppe et al. (2010) utilizando protocolo de 5 dias, avaliaram os efeitos de uma única aplicação de 50 mg de Dinoprost no

momento da retirada do CIDR, quando comparado com duas doses de 25 mg com intervalo de 8 horas, não apresentou diferença.

Atualmente existe carência de trabalhos no que diz respeito aos efeitos da redução do tempo de permanência do CIDR em vacas Nelore. Um dos protocolos usualmente utilizados no Brasil foram sugeridos por Menenghetti et al. (2009) que recomenda o uso do BE no início do protocolo de sincronização, sendo que o CIDR permanece por 9 dias, e ao final do protocolo ocorre a aplicação de prostaglandina, cipionato de estradiol e eCG ou remoção do bezerro por 48 horas, o mesmo autor recomenda a utilização do CIDR por até 27 dias (3 utilizações). Tendo em vista as reutilizações do CIDR, quando optamos por um período de exposição mais curto (5 dias), poderemos ter uma quantidade maior de utilizações deste CIDR, passando de 3 (27 dias) para 5 vezes (25 dias), reduzindo assim o custo final do protocolo. Desta forma, um dos objetivos deste experimento é avaliar a performance reprodutiva das vacas submetidas ao protocolo 5d BE+CIDR.

3.1 Hipóteses

A dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ poderá afetar a taxa de luteólise e consequentemente melhorar a taxa de prenhez em vacas Nelore submetidas a protocolos de 5 e 7 dias de exposição ao CIDR com a utilização do BE como sincronizador do crescimento folicular.

A utilização do protocolo de 5 dias de exposição ao CIDR, não afetará a performance reprodutiva em vacas *Bos taurus indicus* submetidas a detecção do estro e inseminação artificial.

3.2 Objetivos

Avaliar as dosagens de prostaglandina em protocolos de 5 e 7 dias de permanência do CIDR com a utilização do BE, em vacas secas sobre a taxa de

aparecimento de estro, taxa de prenhez na inseminação artificial, repasse e na estação de monta.

Avaliar a eficiência reprodutiva do protocolo de 5 dias comparado ao protocolo de 7 dias.

3.3 Materiais e métodos

3.3.1 Localização e período experimental

O experimento foi realizado na Fazenda Figueira (Estação Experimental Agrozootécnica Hildegard Georgina Von Pritzelwitz) situada no município de Londrina – PR – Brasil, com latitude 23°34'25" sul e longitude 50°58'17" oeste. O clima de Londrina, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical úmido, com chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno. A temperatura do mês mais quente é, geralmente, superior a 25,5°C e a do mês mais frio, inferior a 16,4°C. O período experimental foi realizado entre Janeiro e Fevereiro/2009.

Utilizou-se 286 vacas da raça nelore não lactantes, idade média de $6 \pm 1,4$ anos, com peso corporal de 364 ± 39 kg com escore corporal médio de $2,55 \pm 0,16$ (escala de 1 à 5). Todas as vacas foram mantidas à pasto, em piquetes com tamanho aproximado de 120 hectares, sendo a *Brachiaria brizantha*, a pastagem predominante.

Utilizou-se 20 rufiões mestiços com idade média de 18 meses para auxiliar na detecção do estro, sendo 10 submetidos ao processo cirúrgico de desvio peniano à 45 graus da linha média do animal. No restante dos animais optou-se por realizar a aderência peniana na fáscia látea do músculo reto abdominal. Além disso, todos os animais foram submetidos à vasectomia. Os rufiões foram confeccionados 60 dias antes do início dos trabalhos e inseridos no lote após a retirada do CIDR, cada rufião dispunha de um buçal marcador munido de uma mistura de óleo vegetal com tinta em pó xadrez, permitindo assim a identificação das vacas montadas através das manchas de tinta no lombo.

3.3.2 Tratamentos

As vacas foram distribuídas em um esquema fatorial 2 x 3 (Figura 3). Onde utilizaram-se dois períodos de permanência do CIDR e 3 doses de prostaglandinas no seguinte arranjo:

Figura 3 - Tratamentos utilizados nas vacas

Dez dias antes do início, todos os animais foram submetidos ao exame de ultrassonografia e colheita de sangue, para verificação da ciclicidade (presença ou não do corpo lúteo), as amostras de sangue foram centrifugadas e armazenadas em tubos Eppendorff a -18 °C, para posterior análise da concentração de progesterona através de Quimioluminescência (Immulite 1000 – Siemens Healthcare - USA). O mesmo processo de colheita de sangue foi realizada no dia da inserção do dispositivo (D0), totalizando duas colheitas com um intervalo de 10 dias. As vacas foram consideradas cíclicas quando apresentavam concentração de progesterona acima de 1 ng/ml em ao menos uma das colheitas de sangue.

Os animais foram distribuídos nos tratamentos obedecendo os seguintes critérios: idade, escore, peso e raça. A diferença encontrada no números de animais nos tratamentos foi devido a exclusão de alguns animais por diversos motivos tais como: perda do dispositivo, extravio de animais, foram descartados ao total 12 animais por perda do dispositivo e 2 por extravio (não comparecimento ao mangueiro).

As vacas foram sincronizadas com implante vaginal de progesterona CIDR® (Eazi Breed – Cattle inserts - Pfizer – USA) sendo o dia de inserção do implante considerado como dia zero (D0). O protocolo de sincronização consistiu na

colocação do CIDR[®] (D0) e retirada cinco (D5) ou sete (D7) dias após. Concomitantemente aplicou-se via intramuscular 300 UI de eCG (Novormom[®] Intervet-Schering) (Figura 5) e prostaglandina (Lutalyse[®], Pfizer do Brasil – São Paulo) de acordo com o tratamento [2,5 ml (12.5 mg de Dinoprost tometamina); 5 ml (25 mg) e 10 ml (50mg)], à que elas pertenciam. Após a retirada dos implantes, foram inseridos rufiões nos lotes por cinco, e retornaram para detectar cio no repasse 15 dias após a retirada do CIDR, e permaneceram por 10 dias (Figura 4).

Figura 4 - Protocolos experimentais

A inseminação artificial foi realizada obedecendo o esquema AM/PM (Trimberger, 1948), no qual as fêmeas que foram observadas em estro pela manhã são inseminadas à tarde e as fêmeas que foram observadas em estro à tarde são inseminadas na manhã do dia seguinte (MIES FILHO, 1987). Foram utilizados sêmen de 3 touros para realização das inseminações, estes foram divididos igualmente dentro dos tratamentos e o sêmen utilizado na IA da sincronização (primeiro serviço), foi o mesmo utilizado na IA do repasse (segundo serviço).

A técnica de inseminação artificial utilizada foi a retrovaginal, na qual uma das mãos do inseminador conduz um aplicador que contém uma palheta de sêmen, que foi introduzida na vagina e com a outra mão, que está no reto, o inseminador segura a cérvix e passa a pipeta pelos anéis cervicais, fazendo a deposição do sêmen no corpo do útero. Utiliza-se uma palheta de sêmen congelado contendo de 6 a 10×10^6 de espermatozoides móveis.

Após 5 dias do período de detecção de cio no repasse todas as vacas tiveram acesso a touros (1:30) para completar o período da estação de monta na propriedade.

O diagnóstico de prenhez foi realizado através da palpação retal, com o auxílio de um aparelho de ultrassonografia Pie Medical (Scan 200), com a utilização de uma probe linear (5,5 – 7,5 Mhz), 38 dias após a sincronização. Durante o exame ultrassonográfico foi realizada a determinação da origem da prenhez (IA na sincronização ou no repasse). No final da estação de monta, realizou-se outro diagnóstico de gestação para determinar a prenhez realizada pelos touros, as prenhez oriundas da monta natural com touros, não foram inseridas no experimento, pois não contemplavam os objetivos.

As dosagens hormonais de Progesterona foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), ESALQ/USP, Piracicaba, utilizando o método Quimioluminescência automatizada (Immulite® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) através de Kits comerciais do Immulite 1000 para determinação de Progesterona (ARNDT, et al., 2009; KRUEGER; HEUWIESER, 2010), com uma sensibilidade mínima de 0,02 ng/ml e máxima de 20 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio de 2,7% e o CV inter-ensaio de 6,7%.

Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX para variáveis binominais e o procedimento Mixed para variáveis contínuas, ambos do pacote estatístico SAS 9.2.

3.4 Resultados e discussão

3.4.1 Detecção do estro e ciclicidade

Antes do início do protocolo de sincronização do estro, foram realizadas duas colheitas de sangue para determinar a taxa de ciclicidade das vacas, onde 95% delas apresentavam concentração de progesterona superior a 1 ng/ml em pelo menos uma das colheitas. As vacas cíclicas (5%), foram mantidas no experimento, pois estavam distribuídas igualmente nos tratamentos. O motivo desta alta taxa de ciclicidade foi influenciada pela categoria animal utilizada no experimento, porque vacas não lactantes (solteiras) são consideradas uma categoria animal que serve de referência para desempenho reprodutivo, pois são animais que apresentam

plena capacidade reprodutiva porque não possuem o ônus da lactação (vacas com cria ao pé) e crescimento (novilhas) (BRAUNER et al., 2008).

Um dos fatores que pode afetar diretamente a ciclicidade é o balanço energético negativo (BEN), e é uma situação comumente encontrada no período pós parto, sendo associado com a baixa fertilidade. Estudos têm demonstrado que o BEN, afeta o desenvolvimento folicular e está negativamente relacionado com o intervalo a primeira ovulação. Pois as vacas em BEN são mais propensas a desenvolverem anestro por causa da incapacidade dos folículos pequenos ovularem (PIRES et al., 2010).

Foram detectadas em estro 83,17 % (238/286) das vacas, e não houve diferença entre as doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P=0,557$; Figura 7) e interação ($P=0,560$; Figura 5). Porém, houve um efeito significativo ($P=0,025$) no tempo de permanência do CIDR, onde a taxa de detecção de estro foi de 88,03% para 7 dias, quando comparado com 5 dias que foi de 78,47% de detecção de estro (Figura 6).

Estes valores estão de acordo com os encontrados por Loureiro (2005), que concluiu que através da associação do protocolo de sincronização de estro com a visualização de estro utilizando rufiões, normalmente a taxa de detecção do estro é acima de 82%, principalmente na categoria de animais utilizados no estudo. Porém, está bem acima dos citados por Walker et al. (1996), onde a eficiência da detecção de estro é muito menor, girando em torno de 51%. Esta baixa taxa de detecção de estro em vacas Nelore pode ser atribuída a alta incidência de estros durante o período noturno. Segundo Pinheiro et al. (1998) a maioria das vacas Nelore (53,8%), o estro inicia no período noturno (período entre 18:00 à 6:00) e 34,6 % iniciam e terminam no período noturno.

A alta taxa de detecção de estro 83,17 % (Figura 6), provavelmente foi influenciada pela ciclicidade das vacas submetidas ao protocolo de sincronização e pela utilização de rufiões com buçais marcadores que ajudaram a identificar estros noturnos.

Figura 5 - Taxa de detecção de estro nos tratamentos do Experimentais

Figura 6 - Taxa de detecção de estro de acordo com o tempo de permanência do CIDR

A detecção de estro foi realizada durante 2 horas, em dois períodos do dia (7:30 e 17:00 horas), durante 4 dias. O tempo médio para apresentação do estro não diferiu entre os tratamentos ($P=0,385$) (Figura 8), sendo a média de $70,1 \pm 17.3$

horas após a retirada do CIDR, e apresentou ainda uma distribuição homogênea durante o período de observação. Este resultado é semelhante ao encontrado por Chacur (2005), onde avaliou o tempo médio para apresentação de estro em vacas meio sangue Nelore/Chianina sincronizadas com dispositivos de progesterona.

O tempo para aparecimento do estro encontrado no nosso estudo foi um pouco longo, pois não utilizou-se um promotor de ovulação. Em um estudo com o uso de 2 mg de BE 24 horas após a retirada do CIDR e aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, Martínez et al. (2000), encontraram a média de 60% de taxa de detecção do estro e o tempo médio para apresentação foi de $44,2 \pm 11,2$ horas, tempo este muito menor que o encontrado em nosso experimento, possivelmente isto foi ocasionado pela utilização do BE como sincronizador de ovulação.

Figura 7 - Taxa de detecção de estro de acordo com a dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$

Figura 8 - Taxa de detecção do estro acumulada entre os tratamentos

Bridges et al. (2008), quando avaliaram a redução de 7 para 5 dias o tempo de permanência do dispositivo no protocolo Co-Synch com IATF 72 horas após a retirada do CIDR, encontraram um tempo médio para detecção do estro $60,4 \pm 1,1$ e $63,7 \pm 1,2$ horas, para os protocolos D5 e D7 respectivamente, o menor tempo para a detecção do estro neste experimento foi influenciado pela raça dos animais (taurinos), que tendem a apresentar estro mais cedo (BASTOS, 2012).

A taxa de detecção de estro no repasse, não diferiu ($P=0,792$) entre os tratamentos e foi de 59,3, 77,7, 72,4, 77,7, 65,0 e 60,7% para os tratamentos 5d12,5mg, 5d25mg, 5d50mg, 7d12,5mg, 7d25mg e 7d50mg, respectivamente. A observação do estro de repasse teve início 15 dias após a retirada do CIDR, e foi realizado por 10 dias, sendo que esta porcentagem foi obtida levando em consideração os animais não prenhe no repasse, ou seja as vacas que conceberam no primeiro serviço (sincronização) não entraram no cálculo. Assim provavelmente, o alto retorno ao estro dos animais no primeiro ciclo estral após a sincronização, pode estar atribuído ao alto índice de ciclicidade ao início do experimento.

3.4.2 Taxa de concepção e taxa de prenhez

A taxa de concepção na inseminação da sincronização e no repasse, não diferam entre os tratamentos ($P=0,220$), este fato pode ser explicado pois realizou-se a detecção do estro e inseminação artificial 12 horas após.

A taxa de prenhez à primeira inseminação, entre os tempos de permanência do CIDR, foi observou-se um efeito ($P=0,016$) significativo, onde 7 dias (54,2 %) foi superior ao 5 dias (39,6 %) (Figura 9). A menor taxa de prenhez observada no protocolo de 5 dias, pode ter sido devido a aplicação de eCG que acelera o crescimento de um folículo ainda jovem, fazendo com que as vacas apresentassem estro mais cedo, e consequentemente também ovularam mais cedo, provavelmente ovulando um oócito não completamente apto para uma boa fertilização e/ou para produzir um embrião de boa qualidade. Com relação às doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$, não foi detectado diferença ($P=0,279$), e as médias foram 49,0, 50,0 e 41,5 %, para as dosagens 12,5mg, 25mg e 50mg, respectivamente. Não houve efeito significativo ($P=0,172$) na interação entre os tratamentos, sendo que as médias podem ser observadas na tabela 2.

No presente experimento utilizou-se 2 mg de BE no início do protocolo com o objetivo de sincronizar a emergência de uma nova onda folicular, assim a diferença encontrada no tempo de permanência do CIDR, pode ter sido ocasionada pelo menor tempo de crescimento do folículo com 5 dias de permanência do CIDR, pois levando em consideração que uma nova onda de desenvolvimento folicular ocorre em média $3,3 \pm 0,2$ dias após a aplicação de 2 mg de BE (BASTOS, 2012), o folículo ovulatório com 7 dias de CIDR possuiu um maior período de crescimento, e provavelmente uma maior fertilidade.

Figura 9 - Taxa de prenhez no primeiro serviço aos 5 e 7 dias de permanência do CIDR

Quando as concentrações de progesterona estão elevadas na circulação, o estradiol representa uma maneira eficaz de sincronização (BOGACZ et al., 1999, 2000), porém emergência de uma nova onda é tardia, quando comparado ao protocolo 5d Co-Synch, que utiliza o GnRH como sincronizador de uma nova onda folicular (BRIDGES et al., 2008; WHITTIER et al., 2010), sendo que esta nova onda folicular inicia-se 1,5 dias após a aplicação de GnRH, ao passo que com a utilização do BE ela inicia 3,3 dias após a aplicação (BASTOS, 2012).

Nos trabalhos realizados por Burke et al. (2005, 2007) determinou-se que a administração de uma dose de BE suprimiu as concentrações de LH e/ou FSH na circulação e promoveu uma perda rápida e sustentada da capacidade dos folículos dominantes saudáveis produzirem estradiol. No experimento de Burke et al. (2003), foi realizada a aspiração de todos os folículos ovarianos com > 5 mm de diâmetro em vacas de corte, com o objetivo de induzir uma nova onda, utilizou-se 0, 1, 2 e 4 mg de BE com o objetivo de induzir uma nova onda de crescimento. As concentrações de estradiol no intervalo entre 24 a 72 horas foram diferentes ($P < 0,01$) aumentando de acordo com a dose de BE. O pico de FSH ocorreu $29,3 \pm$

4,0; $53,3 \pm 4,5$; $81,1 \pm 15,5$ e $91,4 \pm 8,2$ horas para os tratamentos 0, 1, 2 e 4 mg BE, respectivamente, e a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular ocorreu nos dias $1,5 \pm 0,2$; $3,3 \pm 0,3$; $4,0 \pm 0,6$ e $4,4 \pm 0,4$, respectivamente. O tempo para o pico de FSH e emergência da onda folicular foi menor ($P < 0,05$) para 0 mg, igual para os 1 e 2 mg e mais longo ($P < 0,05$) para 4 mg de BE.

A taxa de prenhez no primeiro serviço não foi influenciada pela dose $\text{PGF}_{2\alpha}$, provavelmente pela alta incidência de animais ciclando (95%) ao início do protocolo de sincronização. O dia do ciclo estral dos animais utilizados foi aleatório sendo que a idade média dos corpos lúteos presentes obrigatoriamente estariam no intervalo de 5 a 17 dias, pois utilizamos no protocolo de sincronização a associação de BE e progesterona, que acarreta na atresia do FD presente (DAY et al., 2010). Ferraz et al. (2012), trabalharam com doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (12,5, 25 e 50 mg) no dia 5 e 7 do ciclo estral, e determinaram que a luteólise do corpo lúteo (CL) com 5 dias quando aplicada a dose de 12,5mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$, ocorre em apenas 21,1% e aumenta para 62,5% aos 7 dias.

A taxa de prenhez do segundo serviço (repasse), não apresentou um efeito significativo ($P = 0,112$) para o tempo de permanência do CIDR, para a administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P = 0,688$) e para a interação dos tratamentos ($P = 0,122$), sendo a taxa de prenhez média de 50 % (Tabela 2).

Tabela 2 - Taxa de prenhez ao primeiro serviço, repasse após a IA e prenhez total nos tratamentos experimentais

	TRATAMENTOS						Valor de P=		
	5d12,5mg	5d25mg	5d50mg	7d12,5mg	7d25mg	7d50mg	CIDR	PGF _{2α}	CIDR* PGF _{2α}
Taxa de Detecção do Estro (%)	72,0 (36/50)	80,4 (37/46)	83,3 (40/48)	89,6 (43/48)	85,4 (41/48)	89,1 (41/46)	0,025	0,557	0,560
Taxa de prenhez ao primeiro serviço¹ (%)	36,0 (18/50)	41,3 (19/46)	41,7 (20/48)	62,5 (30/48)	58,3 (28/48)	41,3 (19/46)	0,016	0,279	0,172
Taxa de prenhez ao segundo serviço² (%)	50,0 (16/32)	59,3 (16/27)	60,7 (17/28)	61,1 (11/18)	35,0 (7/20)	33,3 (9/27)	0,112	0,688	0,122
Taxa de prenhez total³ (%)	68,0 (34/50)	76,1 (35/46)	77,1 (37/48)	85,4 (41/48)	72,9 (35/48)	60,9 (28/46)	0,927	0,442	0,329

¹ Taxa de prenhez relativa à IA após a sincronização; ² Taxa de prenhez no repasse (após a IA); ³ Taxa de prenhez total = somatório da taxa de prenhez do primeiro e segundo serviço (26° dia da estação de monta).

A taxa de prenhez total não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos, sendo que a média geral obtida foi de 73,42 % nos primeiros 26 dias da estação de monta, fato este altamente impactante na moderna pecuária de corte, que preconiza o intervalo entre partos de 12 meses.

3.5 Conclusões

A dose de prostaglandina não melhorou a taxa de prenhez em vacas Nelore submetidas aos protocolos de 5 e 7 dias de permanência do CIDR.

A taxa de prenhez ao primeiro serviço foi maior no tempo de permanência do CIDR de 7 dias quando comparado ao tempo de 5 dias em vacas da raça Nelore.

A redução do tempo de permanência do dispositivo de 7 para 5 dias, necessita ser estudada quanto a dinâmica folicular, principalmente no âmbito dos efeitos do estradiol no desenvolvimento de uma nova onda folicular e consequências quanto a fertilidade obtida.

CAPÍTULO IV

**EFEITO DO TEMPO DE PERMANÊNCIA DO DISPOSITIVO DE
PROGESTERONA, ASSOCIADO À APLICAÇÃO DE BENZOATO DE
ESTRADIOL, SOBRE A DETECÇÃO DE ESTRO E A TAXA DE PRENHEZ EM
NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES**

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar o desempenho reprodutivo de novilhas Nelore pré-puberes (n=407), utilizando protocolos de sincronização de estro com 5, 7, 9, 11 dias de permanência do CIDR[®] associado com a aplicação de Benzoato de Estradiol (BE). As novilhas foram bloqueadas de acordo com o peso corporal ($268,0 \pm 26,21$ Kg) e escore de condição corporal ($2,63 \pm 0,21$, escala de 1 a 5) em um esquema factorial de 4 x 2. Todos os animais receberam 2 mg de BE no momento da inserção do CIDR[®], e depois quer seja 5, 7, 9, 11 dias, o CIDR[®] foi removido e todas as novilhas receberam 25 mg de PGF_{2α} (Lutalyse[®]) e 300 UI de eCG (Novormon[®]). Metade das novilhas de cada tempo de permanência do dispositivo receberam 1 mg de BE 48 horas após a remoção do CIDR[®]. Desta maneira, os tratamentos experimentais foram: 5d (n = 51; e.g. 5 dias de CIDR, sem BE 48 horas após a remoção do CIDR[®]); 5dBE (n = 61; e.g. 5 dias de CIDR[®], com a aplicação de BE 48 horas após a remoção do CIDR[®]); 7d (n = 47); 7dBE (n = 51); 9d (n = 50); 9dBE (n = 49); 11d (n = 46) e 11dBE (n = 52). A detecção do estro foi realizada por 5 dias após a retirada do CIDR[®] e a inseminação artificial feita de acordo com o protocolo AM/PM. A detecção do estro de retorno, foi realizada 16 dias após a retirada do CIDR[®] e continuada por 10 dias. O diagnóstico de prenhez foi realizado 60 dias após a primeira IA. As variáveis binomiais foram analisadas utilizando o procedimento GLIMMIX, e as variáveis contínuas utilizando o procedimento MIXED ambos pertencentes ao pacote estatístico SAS[®] 9.2. Após a retirada do CIDR, uma grande ($P < 0,05$) proporção (87,3%) das novilhas que receberam BE apresentaram estro em comparação as que não receberam o BE (54,6%). O tempo médio para apresentação do estro ($68,1 \pm 17,3$ horas após a remoção do CIDR) e a distribuição do estro não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos. A dose adicional de BE não aumentou ($P > 0,05$) a taxa de concepção, mas aumentou ($P < 0,05$) a taxa de prenhez à primeira IA, e as médias foram 12,4 e 18,8 % para os tratamentos sem BE e com BE respectivamente. Os efeitos do tempo de duração do CIDR[®] não foram detectados ($P > 0,05$). Em novilhas Nelore pré-puberes, a inclusão de 1 mg de BE 48 horas após a remoção do CIDR[®] aumentou a apresentação do estro, não influenciou a taxa de concepção, mas aumentou a taxa de prenhez de novilhas sincronizadas com CIDR[®].

Palavras-chave: Pré-puberes. Benzoato de estradiol. Progesterona. Nelore. CIDR.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate reproductive performance of prepuberal Nellore heifers (n = 407) using either a 5, 7, 9 or 11 d CIDR[®] treatment with an estradiol benzoate (EB) - based synchronization program. Heifers were blocked to treatments based on body weight ($268 \pm 26,21$ Kg) and body condition score (2.63 ± 0.21 , scale of 1 to 5) in a 4 x 2 factorial arrangement. All animals received 2 mg EB at time of CIDR insertion, and after either 5, 7, 9 or 11d the CIDR[®] was removed and all heifers received 25mg PGF_{2α} (Lutalyse[®]) and 300 IU of eCG (Novormon[®]). Approximately half of the heifers in each group (CIDR implant) were administered 1mg EB at 48 h after CIDR[®] withdrawal. Therefore, experimental treatments were designated as 5dEB (n = 61; e.g. 5 days of CIDR[®] with 1mg EB 48 after CIDR[®] removal); 5d (n = 51; e.g. 5 days of CIDR[®] without EB after CIDR[®] removal); 7dEB (n = 51); 7d (n = 47); 9dEB (n = 49); 9d (n = 50); 11dEB (n = 52) and 11d (n = 46). Estrus detection was performed for 5 d after CIDR[®] removal and artificial insemination (AI) was performed according to the AM/PM protocol. Detection for return to estrus and AI, in heifers not conceiving to the initial AI, began 16 d after CIDR withdrawal and continued for 6 days. Pregnancy was diagnosed by ultrasonography 60 d after the first AI. Binominal data were analyzed using GLIMMIX procedures of SAS[®] 9.2. After CIDR[®] withdrawal, a higher (P < 0.05) proportion (87.3 %) of heifers that received EB showed estrus as compared to the heifers that did not received the second EB treatment injection (54.6%). Timing (68.1 ± 17.3 h after CIDR[®] removal) and distribution of estrus did not differ among treatments. The additional EB did not increase conception rate, but improve (P = 0.06) pregnancy at first AI (with EB, 18.8%; without EB, 12.4 %). Final pregnancy rates did not differ among treatments. Effects of the duration of CIDR[®] treatment were not detected. In prepubertal Nellore heifers, injection of EB treatment at 48h after CIDR[®] removal improved estrus response, but did not influence conception rate.

Keywords: Prepuberal. Heifers. Estradiol benzoate. Progesterone. Nellore. CIDR.

4 INTRODUÇÃO

A idade em que ocorre a primeira cobertura e a concepção são determinantes primários da produtividade das novilhas, e a idade na puberdade é o principal fator que determina a competência da fêmea em sua primeira estação de monta. A idade em que as novilhas alcançam a puberdade varia de acordo com numerosos fatores tais como: peso corporal, idade, nutrição e manejo (DAY et al., 2010). Do ponto de vista prático, a ocorrência da puberdade na fêmea é o apogeu final de uma série de eventos, que resultam em uma ovulação acompanhada por estro e função lútea normal (MORAN et al., 1989).

Contudo, em novilhas, a maturidade sexual, fase em que o animal atinge a plena capacidade reprodutiva, é atingida pela ocorrência de três ciclos estrais consecutivos completos, em intervalos regulares acrescidos dos sinais externos de comportamento de estro (ROMANO, 1997). Nos últimos anos vários protocolos hormonais têm sido utilizados para induzir a puberdade em novilhas (GASSER et al., 2006a,b,c; CLARO JR. et al, 2010) e desta forma aumentar a eficiência reprodutiva do rebanho pela diminuição da idade ao primeiro parto. Estes protocolos utilizam a associação ou não entre hormônios tais como: hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), gonadotrofinas coriônicas (hCG e eCG), progestágenos, progesterona, estrógenos (BE) e prostaglandinas (PGF_{2α}).

O fator genético pode ter um efeito decisivo sobre o peso ideal, bem como a idade em que a puberdade é manifestada (MARSON et al., 2004). O aparecimento da puberdade está estreitamente relacionado à condição alimentar sob a qual as novilhas foram mantidas após o desmame, ou seja, está relacionada ao desenvolvimento corporal, sendo mais precoce nos animais mantidos em melhores condições nutricionais. Novilhas da raça Nelore, quando alimentadas com elevados níveis nutricionais apresentam uma redução na idade à puberdade (510 dias), quando comparadas a novilhas que foram submetidas a uma dieta com baixos níveis nutricionais (596 dias). As novilhas normalmente alcançam a puberdade quando atingem de 65 a 75% do peso corporal adulto (DOBSON; KAMONPATANA, 1986; SEMMELAMNN et al., 2001). Assim a determinação de um peso mínimo necessário ao acasalamento, é uma medida prioritária para o sucesso reprodutivo

desta categoria (QUADROS; LOBATO, 2004).

O estímulo necessário para a ocorrência da puberdade é um aumento na secreção de LH como o resultado do aumento da liberação de GnRH pelo hipotálamo (DAY et al., 2010). Alguns autores acreditam que a progesterona (P4) seja o fator que impede a ovulação e a manifestação da puberdade. Adams et al. (1994) demonstraram que durante a fase pré-pubere são baixas as concentrações de P4. Kinder et al. (1987) relataram que devido à presença de quantidades variáveis de E2 produzidos pelos folículos ovarianos, a ovulação ou luteinização poderá ocorrer, resultando em aumentos transitórios nas concentrações de P₄, geralmente não precedidas de comportamento de estro. Marson (2000) ressalta que, embora seja provável a ação inibitória do E2, torna-se necessário um estímulo prévio com a P4 para que o estro púbere se manifeste por meio de sinais externos, e seja seguido de ovulação e função luteal competente.

4.1 Hipóteses

A sincronização de novilhas Nelore pré-púberes com dispositivo de progesterona associado com a administração de Benzoato de estradiol (BE) é capaz de induzir a ciclicidade nas novilhas submetidas à quatro períodos de permanência do dispositivo de progesterona, sendo que quanto maior o tempo de implante de progesterona, melhor será a taxa de prenhez.

4.2 Objetivos

Avaliar o tempo de permanência do implante de progesterona em novilhas Nelore pré-púberes, submetidas ou não a aplicação de benzoato estradiol, 48 horas após a retirada do CIDR[®], sobre a taxa de detecção do estro e a taxa de prenhez na inseminação artificial e ao final da estação de monta.

4.3 Materiais e métodos

O estudo foi realizado na Fazenda Figueira (Estação Experimental Agrozootécnica Hildegard Georgina Von Pritzelwitz) situada no município de Londrina – PR – Brasil, com latitude 23°34'25" sul e longitude 50°58'17" oeste. O clima de Londrina, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical úmido, com chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno. A temperatura do mês mais quente é, geralmente, superior a 25,5°C e a do mês mais frio, inferior a 16,4°C. O período experimental foi durante a estação de monta (Dez/2008 à Fev/2009).

Utilizou-se 407 novilhas pré-púberes da raça Nelore, idade média $25,3 \pm 0,21$ meses, peso corporal $268,0 \pm 26,21$ kg e com ECC médio de $2,63 \pm 0,21$ (escala de 1 - 5). Todas as novilhas foram mantidas à pasto, em piquetes com tamanho aproximado de 130 hectares, sendo a *Brachiaria brizantha*, a pastagem predominante. O piquete possui água e cocho de mineral “*ad libitum*”.

Para realização da detecção do estro foram utilizados 20 rufiões, eles foram inseridos no lote após a retirada do CIDR, cada rufião dispunha de um buçal marcador munido de uma mistura de óleo vegetal com tinta em pó, permitindo assim a identificação dos animais montados através das manchas de tinta no lombo dos animais.

As novilhas foram distribuídas em um esquema fatorial 4 x 2. Onde utilizamos quatro protocolos de sincronização com e sem a utilização de BE 48 horas após a retirada do CIDR, no seguinte arranjo: 5dBE (n = 61, ex. 5 dias de permanência do CIDR, com aplicação de 1 mg de BE após 48 horas da retirada do CIDR); 5d (n = 51, ex. 5 dias de permanência do CIDR, sem a aplicação de BE); 7dBE (n = 51); 7d (n = 47); 9dBE (n = 49); 9d (n = 50); 11dBE (n = 52); 11d (n = 46). Sendo o dia da inserção do CIDR[®] considerado dia 0 (zero).

No dia D-10 e D0 (inserção do CIDR) todos os animais foram submetidos ao exame de ultrasonografia para verificação da ciclicidade (presença ou não do corpo lúteo), neste momento ainda foi realizada a colheita de sangue, que posteriormente foram centrifugados e armazenados em tubos Eppendorff a -18 °C, para análise da concentração de progesterona. Foram consideradas pré-púberes as novilhas que

não apresentassem CL em ambos exames ultrassonográficos, e não possuísse concentração de progesterona superior a 1 ng/ml em ambas as colheitas de sangue.

As novilhas foram distribuídas nos tratamentos obedecendo os critérios: idade, escore, peso. A diferença encontrada no número de animais na distribuição dos animais nos tratamentos foi devido à exclusão de alguns animais dos tratamentos por diversos motivos tais como: perda do dispositivo (19 novilhas), extravio de animais (3 novilhas).

As novilhas foram sincronizadas com implante vaginal de progesterona CIDR® de segundo uso (Eazi Breed – Cattle inserts - Pfizer – USA) sendo o dia de inserção do implante considerado como dia zero (D0). O protocolo de sincronização consistiu na colocação do CIDR® (D0) e retirado 5, 7, 9 ou 11 dias após (5d, 7d, 9d e 11d). No momento da retirada foi realizada a aplicação de 5,0 ml de prostaglandina (Lutalyse®, Pfizer do Brasil – São Paulo), e 300 UI de eCG (Novormon® – Shering- Intervet), nos tratamentos com Be, ocorreu a aplicação de 1ml de Be por via intramuscular, após 48 horas da retirada do dispositivo (Figura 10). Após a retirada dos implantes, foram inseridos rufiões nos lotes, que permaneceram por dois períodos, os primeiros foram de cinco dias após a retirada, e retornaram para diagnosticar as novilhas em cio no repasse no primeiro ciclo estral após a sincronização que iniciou no dia 16 e foi realizado até o dia 25 após a retirada do CIDR.

Figura 10 - Protocolos experimentais

A inseminação artificial foi realizada obedecendo o esquema de Trimberger (1948), no qual as fêmeas que foram observadas em estro pela manhã são inseminadas à tarde e as fêmeas que foram observadas em estro à tarde são inseminadas na manhã do dia seguinte (MIES FILHO, 1987). Foram utilizados sêmen de 3 touros para realização das inseminações, estes foram divididos igualmente dentro dos tratamentos. O sêmen utilizado na IA da sincronização foi o mesmo utilizado na IA do repasse.

A técnica de inseminação artificial utilizada foi a retrovaginal, na qual uma das mãos do inseminador conduz um aplicador que contém uma palheta de sêmen, que é introduzida na vagina e com a outra mão, que está no reto, o inseminador fixa a cérvix e passa a pipeta pelos anéis cervicais, fazendo a deposição do sêmen no corpo do útero. Para a inseminação convencional de vacas, em que o sêmen é depositado no corpo do útero, utilizou-se uma palheta de sêmen congelado contendo de 6 a 10×10^6 espermatozoides móveis.

O repasse foi realizado a partir do 16º dia após a IA da sincronização, pelo período de 10 dias (25º dia), seguindo os mesmos procedimentos adotados na IA. Com observação diária de estro nos períodos matutino e vespertino. Sendo obedecido o esquema desenvolvido por Trimberger.

O diagnóstico de prenhez foi realizado através da palpação retal, com o auxílio de um aparelho de ultrassonografia Pie Medical (Scan 200), com a utilização de uma probe linear (5,5 – 7,5 Mhz), 40 dias após a sincronização. Durante o exame ultrassonográfico foi realizada a determinação da origem da prenhez (IA na sincronização ou no repasse). No final da estação de monta de 90 dias, realizou-se outro diagnóstico de gestação para determinar a prenhez realizada touros.

As dosagens hormonais de Progesterona foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), ESALQ/USP, Piracicaba, utilizando o método Quimioluminescência automatizada (Immulite® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) através de Kits comerciais do Immulite 1000 para determinação de Progesterona (ARNDT et al., 2009; KRUEGER; HEUWIESER, 2010), com uma sensibilidade mínima de 0,02 ng/ml e máxima de 20 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio de 2,7% e o CV inter-ensaio de 6,7%.

Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX para variáveis binominais e o procedimento Mixed para variáveis contínuas, ambos do pacote estatístico SAS 9.2.

4.4 Resultados e discussão

4.4.1 Ciclicidade e Detecção do estro

Todas novilhas utilizadas no presente estudo não possuíam corpo lúteo nas duas avaliações ultrasonográficas realizadas (D-10 e D0), isto foi confirmado após a análise das dosagens de progesterona, onde todas as novilhas em ambas colheitas apresentavam concentração de progesterona inferior a 1 ng/ml no soro sanguíneo, sendo que a concentração média de progesterona foi de $0,548 \pm 0,21$ ng/ml.

A ciclicidade das novilhas foi influenciada pelo peso corporal ($268,4 \pm 26,21$ kg) ao início dos protocolos de sincronização, pois apesar dos animais possuírem idade adequada ($25,3 \pm 0,21$ meses), o peso era insatisfatório. Existem mecanismos endócrinos que garantem que a novilha não ative o sistema reprodutivo até que se possua um desenvolvimento somático compatível com a reprodução, sendo que este se desenvolve próximo de 65 a 70% do peso corporal adulto (DOBSON; KAMONPATANA, 1986; SEMMELAMNN et al., 2001).

Na taxa de detecção de estro não foi encontrada diferença significativa ($P=0,188$) no tempo de permanência do CIDR, porém foi encontrada diferença significativa ($P<0,0001$) nas novilhas que receberam BE 48 horas após a remoção do CIDR, onde os animais que receberam BE (87,3%, 186/213) tiveram uma apresentação de estro maior que os que não receberam BE (54,6%, 106/194) (Figura 11). Ainda na detecção do estro, não foi encontrada diferença significativa ($P=0,778$) na interação (CIDR x BE), as médias encontradas foram 86,8; 52,9; 88,2; 46,8; 81,6; 52,0; 92,3 e 67,3 %, para os tratamentos 5dBE, 5d, 7dBE, 7d, 9dBE, 9d, 11dBE e 11d respectivamente (Figura 12).

A alta taxa de apresentação de estro está diretamente relacionada com a utilização do BE, 48 horas após a retirada do CIDR (Figura 13), pois houve efeito significativo para a interação BE x Hora, onde os animais que receberam BE, apresentaram mais estro nas horas 72, 84 e 96 horas após a remoção do CIDR.

Figura 11 - Taxa de detecção do estro nos protocolos experimentais com e sem a aplicação de BE

Figura 12 - Taxa de detecção do estro nos protocolos experimentais

Figura 13 - Percentual acumulado da detecção do estro nos protocolos experimentais com e sem aplicação de BE

Rasby et al. (1998) com o objetivo de induzir a ciclicidade em novilhas prépuberes cruzadas, utilizaram CIDR e/ou CIDR+BE, sendo que o BE foi

administrado 30 horas após a retirada do dispositivo, o tratamento CIDR apresentou uma taxa de detecção de estro de 37 %, ao passo que o tratamento que teve associação do CIDR+BE obteve 81 % de detecção de estro nos primeiros 4 dias após a retirada do dispositivo. Estes dados corroboram com os apresentados neste estudo.

Apesar da diferença encontrada na detecção do estro entre os tratamentos, o tratamento 7d apresentou o pior índice (46,81%), resultado este aceitável, principalmente quando utiliza-se a IATF. Ereno et al. (2007), trabalharam com a sincronização de vacas Nelore e obtiveram taxa de detecção de 50%, sendo que 84% vacas estavam ciclando (presença de CL). A aplicação de eCG na retirada do dispositivo de progesterona pode ter influenciado na taxa de detecção de estro dos tratamentos sem BE, pois o tratamento com eCG é uma alternativa para aumentar o desenvolvimento folicular (BARUSELLI et al., 2004), podendo aumentar assim a apresentação de estro, pois com um maior desenvolvimento folicular teremos um maior aporte de estradiol.

Claro Jr. et al. (2010), ao trabalharem com novilhas Nelore prépuberes com o objetivo de induzir a puberdade somente com o uso de CIDR, obtiveram uma taxa de detecção de estro após 7 dias de 38,2 % utilizando CIDR de terceiro uso (27 dias) e 42,6 % utilizando CIDR novo. Resultados muito inferiores aos encontrados no nosso trabalho, possivelmente influenciados pela não utilização do eCG.

Em vacas no anestro pós parto, o tratamento com progesterona ou outras progestinas aumenta as concentrações intrafoliculares e circulantes de estradiol, aumenta a liberação dos pulsos de LH e aumenta ainda o número de receptores para o LH nas células da granulosa e teca dos folículos ovulatórios (BARUSELLI et al., 2004), estes efeitos contribuem para que um grande porcentagem de animais apresentem estro após a retirada do dispositivo de progesterona.

4.5 Taxa de concepção e prenhez

A taxa de concepção na inseminação da sincronização não diferiu ($P=0,285$) entre os tratamentos e foi 14,7, 18,9, 13,7, 24,5, 38,5, 20,0, 22,6 e 23,0 % para os tratamentos 5d, 5dBE, 7d, 7dBE, 9d, 9dBE, 11d, 11dBE, respectivamente. O tempo

de permanência do CIDR não influenciou ($P=0,402$) a taxa de concepção e foi de 17,5, 20,9, 27,3, 22,8 % para os tempos de 5, 7, 9 e 11 dias, respectivamente. A administração de benzoato de estradiol 48 horas após a retirada do CIDR, também não influenciou ($P=0,929$) a taxa de concepção e foi de 17,0 % para os animais que receberam BE e 14,4 % para os animais que não receberam.

A taxa de prenhez na IA da sincronização foi influenciada ($P=0,046$) pela administração do BE, sendo que os animais que receberam BE (18,8%) apresentaram taxa de prenhez superior aos que não receberam BE (12,4%) 48 horas após a retirada do CIDR. Não houve efeito significativo ($P=0,404$) para o tempo de permanência do dispositivo, sendo 12,5, 14,3, 18,2, 18,4 % para os tempos de 5, 7, 9 e 11 dias de CIDR. As médias de prenhez ($P=0,258$) encontradas nos tratamentos foram 7,8, 16,4, 6,4, 21,6, 20,0, 16,3, 15,2 e 21,2%, para os tratamentos 5d, 5dBE, 7d, 7dBE, 9d, 9dBE, 11d, 11dBE, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3 - Taxas de concepção, prenhez na AI e prenhez final

	Tratamentos								Valor de P		
	5d	5dBE	7d	7dBE	9d	9dBE	11d	11dBE	CIDR	BE	CIDR*BE
Taxa de Detecção do Estro ¹ , %	52,9 (27/51)	86,9 (53/61)	46,8 (22/47)	88,2 (45/51)	52,0 (26/50)	81,6 (40/49)	67,4 (31/46)	92,3 (48/52)	0,188	<,0001	0,778
Taxa de Concepção ² , %	14,7 (4/27)	18,9 (10/53)	13,7 (3/22)	24,5 (11/45)	38,5 (10/26)	20,0 (8/40)	22,6 (7/31)	23,0 (11/48)	0,402	0,929	0,285
Taxa de Prenhez ³ , %	7,8 (4/51)	16,4 (10/61)	6,4 (3/47)	21,6 (11/51)	20,0 (10/50)	16,3 (8/49)	15,2 (7/46)	21,2 (11/52)	0,404	0,046	0,258
Taxa de Prenhez Final ⁴ , %	58,8 (30/51)	60,7 (37/61)	70,2 (33/47)	60,8 (31/51)	62,0 (31/50)	67,3 (33/49)	58,7 (27/46)	63,5 (33/52)	0,214	0,355	0,738

¹Taxa de detecção de estro após a sincronização do estro; ²Taxa de concepção à IA realizada após o protocolo de sincronização; ³Taxa de prenhez após a sincronização do estro; ⁴Taxa de prenhez ao final da estação de monta de 90 dias;

A taxa de prenhez foi influenciada pela aplicação de BE, devido as novilhas apresentarem mais estro, e como neste experimento realizamos as inseminações artificiais de acordo com o método de Trimberger (1948), ocorreu um aumento da taxa de serviço, sem o aumento na taxa de concepção da inseminação artificial após o protocolo de sincronização.

Dias et al. (2009), trabalharam com novilhas púberes submetidas ao protocolo de 9 dias de CIDR e testaram a reutilização de dispositivos e encontraram taxa de concepção de 53,2% e prenhez de 35,5%, utilizando dispositivos por 3 usos (27 dias), porém quando utilizaram dispositivos de primeiro e segundo uso, encontraram taxas de concepção 37,8% e 22,7% de prenhez, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo utilizando o CIDR de segundo uso (14 dias). Nos estudos realizados com novilhas Nelore ainda existem controvérsias quando a dose de progesterona ideal para novilhas púberes e pré-púberes, Peres et al. (2009), quando trabalharam com CIDR de primeiro uso, associado com 300 UI de eCG, e obtiveram uma taxa de prenhez de 49,2% em novilhas púberes.

Claro Jr. et al. (2010), encontraram taxas de prenhez aos 7 dias após a sincronização de 18,4 % para as novilhas que receberam dispositivos reutilizados por 27 dias, porém a taxa de concepção foi de 46,8%, esta última muito superior a encontrada por nós neste experimento. Pfeifer et al. (2009), trabalharam com novilhas púberes e pré-púberes e avaliaram a pré exposição à progesterona por 14 dias. As novilhas púberes apresentaram melhor resposta aos tratamentos com e sem pré exposição (60,3% taxa de prenhez), porém as novilhas pré-púberes não responderam ao tratamento de progesterona por 14 dias (35% taxa de prenhez) na IATF. Esse resultado difere dos relatados por Tauck et al. (2007) em que a exposição a progesterona por 14 dias aumentou a taxa de prenhez em comparação à exposição por 7 dias, em novilhas de corte, pois o aumento no tempo de exposição à progesterona pode aumentar a taxa de concepção (LAMB et al., 2006).

Novilhas pré-púberes apresentam ondas de crescimento folicular, influenciadas pelo aumento da concentração de FSH que ocorre até o desvio folicular (ADAMS et al., 1994; EVANS et al., 1994). Todavia as baixas concentrações de estradiol, talvez derivadas do folículo dominante, suprimem os pulsos de LH e limitam o crescimento e a produção de estradiol do folículo, prevenindo o pico de LH e ovulação (WILTBANK et al., 2002).

Contudo a exposição ao progestágeno induz ao aumento da frequência da pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH) nas novilhas de maneira similar ao observado no processo espontâneo de evolução para a puberdade. Essa hipótese está baseada no fato de a progesterona causar redução no número de receptores de estradiol no sistema neural, o que modularia a ação do *feedback* negativo do estradiol nos neurônios liberadores de GnRH (DAY et al., 1984).

A utilização de dispositivos reutilizados por 3 vezes (27 dias), aumenta a detecção de estro nos primeiros dias após o protocolo de indução da ciclicidade, indicando o efeito da progesterona exógena na indução da puberdade em novilhas *Bos indicus* (CLARO JR. et al., 2010), pois aumenta a frequência dos pulsos de LH (ANDERSON et al., 1996).

Estudos têm demonstrado que existe uma forte correlação entre o escore do trato uterino (diâmetro do corno uterino/ tonicidade) com a fertilidade de novilhas na primeira estação de monta (ANDERSON et al., 1991; FERREIRA et al., 1999). Além de todos os benefícios já citados, a exposição a progesterona induz ainda ao aumento do peso uterino, ocasionado pelo aumento das concentrações circulantes de estradiol, pois elas causam modificações nos tecidos uterinos, refletindo no crescimento e desenvolvimento do tecido epitelial e glandular, e na secreção de proteínas luminais (JOHNSON et al., 1997).

Anderson et al. (1996) trabalharam com novilhas prépuberes, e demonstraram que a exposição a progesterona tende a aumentar o peso uterino após 9 dias de exposição ($121,2 \pm 21$, $85,0 \pm 5,4$ gramas, para os animais expostos e não expostos, respectivamente), sendo que existe uma grande diferença ($P < 0,05$) um dia após a retirada da progesterona ($222,3 \pm 30$, $72,7 \pm 10,9$ gramas, para expostos e não expostos, respectivamente).

Os dados da taxa de prenhez final foram obtidos através do diagnóstico de gestação ao final da estação de monta, e nela estão contabilizados as prenhez da IA (sincronização), repasse com touros. A taxa de prenhez ao final da estação de monta não foi influenciada ($P = 0,738$) pelos tratamentos e foi 58,8, 60,7, 70,2, 60,8, 62,0, 67,3, 58,7 e 63,5 % para os tratamentos 5d, 5dBE, 7d, 7dBE, 9d, 9dBE, 11d e 11dBE respectivamente (Figura 14).

Figura 14 - Taxa de prenhez total ao final da estação de monta nos tratamentos experimentais

4.6 Conclusões

Em novilhas pré-puberes da raça Nelore, a aplicação de BE 48 horas após a retirada do CIDR, aumentou a detecção de estro, porém não aumentou a taxa de concepção a primeira IA, contudo houve um aumento da taxa de prenhez na primeira IA.

Efeitos do tempo de permanência do CIDR, sobre a taxa de detecção do estro, taxa de concepção e taxas de prenhez na IA e no repasse com touros não foram detectados.

CAPÍTULO V

EFEITOS DA UTILIZAÇÃO DE DUAS SUB-DOSES DE PGF₂ α , EM VACAS SINCRONIZADAS COM O PROTOCOLO 7D BE+CIDR

RESUMO

O objetivo deste experimento foi de comparar o desempenho reprodutivo de vacas Nelore lactantes ($n = 191$) sincronizadas utilizando o protocolo 7D BE+CIDR e dois momentos da aplicação das doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$. As vacas foram bloqueadas de acordo com o escore de condição corporal ($2,53 \pm 0,32$, escala de 1 - 5), número de partos e período pós-parto, em um arranjo de blocos completos casualizados. Os tratamentos foram: 1xPGF-5d (e.g. 7d de permanência do CIDR[®] e aplicação de uma dose de 25 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no dia 5); 2xPGF-0/7d (e.g. 7d de permanência do CIDR[®] e aplicação de duas doses de 12,5 mg de $\text{PGF}_{2\alpha}$, uma na inserção do CIDR[®] (D0) e outra na remoção (D7)). No momento da inseção do CIDR, todas as vacas receberam 2 mg de BE, e o uso da $\text{PGF}_{2\alpha}$ no protocolo foi de acordo com o tratamento. Na retirada do CIDR[®] todas as vacas receberam 300 UI de eCG (Novormon[®]) e 0,3 ml de ECP. A detecção do estro foi realizada por 60 horas após a remoção do CIDR, sendo que a IATF foi realizada 50 horas após a remoção. Dezesesseis dias após a IATF o estro foi detectado novamente durante 6 dias e as vacas que apresentaram estro foram novamente inseminadas (AM/PM). O diagnóstico de gestação foi realizado através de ultrasonografia 60 dias após a IATF. Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX do pacote estatístico SAS 9.2. No início do protocolo de sincronização 24,08% (46/191) das vacas estavam ciclando ($>1\text{ng/ml}$ de progesterona em duas colheitas de sangue, com intervalo de 10 dias). O estro foi detectado em 54,45% (104/191) das vacas, sendo que a detecção foi similar entre os tratamentos ($P>0,05$). O tempo médio para detecção de estro não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos e a média foi de $36,4 \pm 8,7$ horas após a retirada do CIDR. A taxa de concepção à IATF não foi diferente ($P>0,05$), 59,5 e 59,7% para os tratamentos 1xPGF-5d e 2xPGF-0/7d, respectivamente. A taxa de prenhez ao final da estação de monta não diferiu ($P>0,05$) entre os tratamentos e foi de 82,9 e 86,6% para os tratamentos 1xPGF-5d e 2xPGF-0/7d, respectivamente. O uso do protocolo de 7d foi efetivo para induzir a ciclicidade em vacas com anestro pós-parto. O protocolo 7d BE+CIDR, com a administração de metade da dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (12,5mg) ao início e ao final do protocolo, não afetou a fertilidade. A aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no D5 não influenciou

positivamente nos índices reprodutivos avaliados, apartir disso podemos utilizar este protocolo com apenas 3 manejos.

Palavras-have: Vacas. Estação de Monta. CIDR. Sincronização do Estro.

ABSTRACT

The aim of this trial was to compare reproductive performance of lactating Nellore cows (n=191), in which estrus was synchronized using 7d EB+CIDR[®] based protocol, and 2 times of injection/dose of Prostaglandin (PGF_{2α}). Cows were blocked according to Body Condition Score (2.53 ± 0.32 , scale of 1 to 5), post-partum period and number of parturition, in a completely randomized design arrangement. The treatments were: 1xPGF-5d (e.g. 7 days CIDR[®] treatment and one injection of 25 mg PGF_{2α} on 5^o day); 2xPGF-0/7d (e.g. 7 days CIDR[®] treatment and two injections of 12.5 mg PGF_{2α} at the insertion and removal CIDR[®]). In the CIDR[®] insertion, all cows received 2mg of EB, the use of PGF_{2α} (Dinoprost Tromethamine/ Lutalyse[®]) in the protocol was according to treatment. At CIDR[®] removal, cows received 300 IU of eCG (Novormon[®]) and 0.3 ml of ECP[®]. Estrus was detected for 60 hours after CIDR[®] removal and FTAI was performed 50 hours after CIDR removal. Sixteen days after CIDR[®] removal, estrus was again checked for 144 hours and cows that showed estrus were AI according to the AM/PM protocol. Pregnancy diagnosis was performed by ultrasonography 60 days after the first AI and at the end of the breeding season. Data were analyzed by binominal parameters of GLIMMIX for SAS 9.2 procedure. At the beginning of the protocol 24.08 % (46/191) of cows were cycling. Estrus detection in 104/191 cows (54.4%), was similar ($P > 0.05$) among experimental treatments. Mean time of onset of estrus did not differ among treatments and was 36.4 ± 8.7 h after CIDR[®] removal. Conception rate in the FTAI was not different ($P > 0.05$), 59.5 and 59.7% for treatments 1xPGF-5d and 2xPGF-0/7d, respectively. There was no difference ($P > 0.05$) on pregnancy rate at the end of the breeding season and was 82.9 and 86.6 % for treatments 1xPGF-5d and 2xPGF-0/7d, respectively. The use of synchronization protocol of 7d EB+CIDR[®] is effective in inducing cyclicity of cows in postpartum anestrus. The 7d EB + CIDR[®] based protocol, with injection of half dose (12.5mg) of PGF at the beginning and end of the protocol, does not affect fertility.

Keywords: Cows. Breed Season. CIDR. Synchronization.

5 INTRODUÇÃO

A Inseminação Artificial (IA), mesmo sendo considerada uma das biotécnicas reprodutivas de maior impacto na produção de ambos os setores (carne e leite), quando realizada de sua maneira tradicional, requer que seja observado o estro duas vezes ao dia, não importando as condições climáticas, época do ano, feriados ou outras atividades que fazem parte da rotina daqueles que trabalham no campo (BÓ et al., 2004).

Em associação a estes fatores, muitas vezes há falha na detecção do estro, tais como estros não identificados ou identificados incorretamente, ocasionando falhas na inseminação e concomitantemente na concepção. Senger (2004) estima que nos EUA, ocorra uma perda anual de mais de 300 milhões de dólares na indústria de leite por falhas na detecção do estro. Este comprometimento pode ser repassado e ser ainda maior em rebanhos zebuínos, pois estes apresentam menor duração do comportamento de estro e alta incidência de estros noturnos (PINHEIRO et al., 1998).

Com o intuito de facilitar o manejo e prevenir estes problemas, foram desenvolvidos protocolos de sincronização do estro. Estes protocolos normalmente são baseados na aplicação de hormônios tais como: Progesterona/progestágenos, Gonadotrofinas (eCG/hCG), Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), Estradiol (BE/ECP) e Prostaglandinas ($\text{PGF}_{2\alpha}$). Sendo que em zebuínos corriqueiramente é utilizada a associação dos hormônios (BE/eCG/ $\text{PGF}_{2\alpha}$ /ECP) com a progesterona.

Com o estudo da dinâmica folicular, vários pesquisadores vem estudando ao longo dos anos um cronograma para a administração dos hormônios, atualmente as empresas recomendam a utilização de 4 manejos para realização das aplicações hormonais e a IATF. Contudo, a utilização de apenas 3 manejos ainda é pouco estudada. A redução em um manejo no protocolo de sincronização de estro de vacas zebuínas trará inúmeros benefícios para o exercício dos trabalhos de curral, reduzirá o estresse destes animais, a probabilidade de acidentes com os animais, menos mão de obra, entre outros.

5.1 Hipótese

Em protocolos de 7 dias de permanência do dispositivo de P₄, aplicando-se a PGF_{2α} uma única dose de 25 mg (D5) ou duas doses de 12,5mg (D0 e D7), não afetará a taxa de prenhez à IATF.

5.2 Objetivos

Avaliar o efeito da aplicação de 2 sub-doses de PGF_{2α}, no protocolo 7d CIDR[®]+BE, quando comparado ao mesmo protocolo com aplicação da PGF_{2α} no D5, em vacas lactantes da raça Nelore sobre:

- Taxa de detecção e tempo médio para aparecimento do estro.
- Taxa de prenhez na IATF.
- Taxa de prenhez no final da estação de monta.

5.3 Materiais e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Figueira (Estação Experimental Agrozootécnica Hildegard Georgina Von Pritzelwitz), situada no município de Londrina – PR – Brasil, com latitude 23°34'25" sul e longitude 50°58'17" oeste. O clima de Londrina, segundo a classificação de Köppen, é do tipo Cfa, ou seja, clima subtropical úmido, com chuvas em todas as estações, podendo ocorrer secas no período de inverno. A temperatura do mês mais quente é, geralmente, superior a 25,5°C e a do mês mais frio, inferior a 16,4°C. O experimento foi realizado no mês de Dezembro de 2010.

Foram utilizadas 191 vacas lactantes da raça Nelore, com idade média de 5 ± 2,3 anos, com média de 60 dias pós-parto e escore corporal médio de 2.53 ± 0.32.

Todas vacas foram mantidas com suas respectivas crias, em pastagens de *Brachiaria brizantha*, com água e sal mineralizado a “*ad libitum*”.

As vacas foram bloqueadas em dois grupos (1xPGF-5d / 2xPGF-0/7d), levando em consideração a idade, dias pós-parto, escore de condição corporal, sexo da cria, e presença de corpo lúteo no ovário.

Dez dias antes do início, todos os animais foram submetidos ao exame de ultrasonografia para verificação da ciclicidade (presença ou não do corpo lúteo), no D-10 e D0, neste momento ainda foi realizada a colheita de sangue para determinação da concentração sanguínea de progesterona. As amostras colhidas foram centrifugadas e armazenadas em tubos Eppendorff a -18 °C, para posterior análise. As vacas foram consideradas cíclicas quando apresentavam concentração de progesterona circulante superior a 1ng/ml, em ao menos uma das colheitas de sangue realizadas.

As dosagens hormonais de Progesterona foram realizadas no Laboratório de Nutrição e Reprodução Animal (LNRA), ESALQ/USP, Piracicaba, utilizando o método Quimioluminescência automatizada (Immulite® 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, Deerfield, IL, USA) através de Kits comerciais do Immulite 1000 para determinação de Progesterona (ARNDT, et al., 2009; KRUEGER; HEUWIESER, 2010), com uma sensibilidade mínima de 0,02 ng/ml e máxima de 20 ng/ml. O coeficiente de variação (CV) intra-ensaio de 2,9% e o CV inter-ensaio de 6,3%.

5.3.1 Tratamentos experimentais

1xPGF-5d (n=94): os animais receberam no dia “zero”, implante de progesterona (CIDR - Pfizer saúde animal) de terceiro uso, associado com a aplicação de 2 mg de Benzoato de estradiol. No quinto dia de implante (D5) ocorreu a aplicação de 25 mg de dinoprost tometamina (Lutalyse® – Pfizer saúde animal), dois após (D7) foi realizada a retirada do implante, e sucedeu-se a aplicação de 300UI de ECG (Novornon® – Schering-Plough Animal Health) e 1mg de Cipionato de estradiol (ECP® - Pfizer saúde animal), a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) ocorreu 50 horas, após a retirada do implante (Figura 15).

2xPGF-0/7d (n=97): os animais receberam no dia “zero”, implante de progesterona (CIDR® - Pfizer saúde animal) de terceiro uso, associado com a aplicação de 2mg de Benzoato de estradiol e 12,5 mg de prostaglandina. No dia da retirada do implante (D7), aplicou-se 12,5 mg de prostaglandina (Lutalyse® - Pfizer saúde animal), associado com a aplicação de 300 UI de ECG (Novorxon® - Schering-Plough Animal Health) e 1mg de Cipionato de estradiol (ECP - Pfizer saúde animal), a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) ocorreu 50 horas após a retirada do implante (Figura 15).

Figura 15 - Protocolos experimentais

Legenda: CS: Colheita de Sangue; BE: benzoato de estradiol; PGF_{2α}: prostaglandina, Dinoprost trometamina; eCG: gonadotrofina coriônica equina; ECP: cipionato de estradiol; IATF: inseminação artificial em tempo fixo; US: ultrassonografia.

Durante o período entre a retirada do CIDR® até a hora da IATF, foi realizada a detecção de estro das vacas, a detecção foi retomada 15 dias após a retirada do CIDR, pelo período de 10 dias, com o objetivo de inseminar as vacas que retornassem a apresentar estro após o protocolo de sincronização. Após os 10 dias de visualização de retorno, foram inseridos aos lotes touros para realização do repasse, e estes permaneceram com as vacas até o final da estação de monta (90 dias).

Para a realização das inseminações, foram utilizados 6 touros comerciais da raça Nelore, as partidas de sêmen após o descongelamento foram avaliadas, e todas apresentaram os padrões recomendados pelo ministério da agricultura (MAPA).

Foram realizados dois exames de ultrasonografia, o primeiro com o objetivo de identificar as vacas prenhes na IATF foi realizado no D45, o segundo exame foi realizado ao final da estação de monta para obtenção da taxa de prenhez.

Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX para variáveis binominais e o procedimento Mixed para variáveis contínuas, ambos do pacote estatístico SAS® 9.2.

5.4 Resultados e discussão

5.4.1 Detecção do estro e ciclicidade

A concentração de progesterona e a ciclicidade das vacas no início do estudo não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$), apenas 24% dos animais apresentaram concentração superior a 1 ng/ml, em pelo menos uma das duas colheitas realizadas com intervalo de 10 dias. Um dos fatores que pode afetar diretamente a ciclicidade é o balanço energético negativo (BEN), e é uma situação comumente encontrada no período pós parto, sendo associado com a baixa fertilidade. Estudos têm demonstrado que o BEN, afeta o desenvolvimento folicular e está negativamente relacionado com o intervalo a primeira ovulação. Pois as vacas em BEN são mais propensas a desenvolverem anestro por causa da incapacidade dos folículos pequenos ovularem (PIRES et al., 2010)

As médias do escore de condição corporal (ECC) não apresentaram diferença significativa ($P=0,723$). As vacas no início do experimento apresentavam em média ECC de $2,50 \pm 0,32$ (escala de 1 a 5) aos 60 ± 4 dias pós parto. Segundo Humblot et al. (2006) para que obtenha-se bons resultados reprodutivos as vacas dever apresentar um ECC superior a 2,5. As vacas do presente estudo estavam no linear inferior, e possivelmente com a fertilidade comprometida pelo estado nutricional baixo. Gottschall (2002), afirmou que o desempenho da fertilidade dos animais está intimamente ligado à condição corporal, sendo que vacas debilitadas nutricionalmente, possuem menor desempenho reprodutivo.

Pinheiro et al. (2009), utilizaram a mesma metodologia para verificação da ciclicidade (US + P₄) em vacas Nelore, e observaram que apenas 17% das vacas apresentavam concentração de progesterona > 1ng/ml em ao menos uma das duas colheitas com intervalo de 10 dias, durante o período de 40 a 80 dias pós-parto. Meneghetti et al. (2009), ao trabalharem com 1487 vacas Nelore lactantes (30 a 90 dias pós parto), apenas 236 (15,8%) foram consideradas cíclicas ao início do protocolo de sincronização. Os autores ainda evidenciaram problemas quanto a detecção de corpos lúteos jovens (4 a 5 dias), ou até mesmo falha do técnico que manipulava o ultrassom (PINHEIRO et al., 2009).

A taxa de detecção de estro foi semelhante entre os tratamentos (P=0,526), sendo em média 54,45% (104/191), do total de animais submetidos ao protocolo. As médias de detecção de estro foram 52,1 e 56,7% para os tratamentos 1xPGF-5d e 2xPGF-0/7d, respectivamente (Figura 16).

Normalmente a taxa de detecção de estro em fêmeas zebuínas é baixa, pois apresentam estro de duração mais curta (aproximadamente 10 horas), o que dificulta sua detecção (GALINA; ARTHUR, 1990 revisado em BÓ et al., 2003). Somado a este fator, mais de 50% dos animais desse grupo genético iniciam a manifestação de cio no período noturno (entre 18:00 e 6:00 h) (PINHEIRO et al., 1998; MEMBRIVE, 2000), sendo que cerca de 34,6 % iniciam e encerram o estro durante a noite (PINHEIRO et al., 1998), dificultando o manejo e a eficácia da detecção de cio.

No trabalho realizado por Sá Filho et al. (2011), quando testaram a utilização de ECP, GnRH e ECP+GnRH em um protocolo de 8 dias (BE+CIDR), a ocorrência média de estro foi de 64,3 %, porém os animais que receberam ECP (1 mg) no momento da remoção do CIDR, apresentaram mais estro (78,7%) quando comparados as que receberam somente GnRH no momento da IATF (43,2%). Já no segundo experimento do mesmo estudo, a média final foi de 57,4% não diferindo entre os tratamentos ECP e GnRH e sua interação.

Em condições brasileiras de manejo, foi avaliado o comportamento reprodutivo de vacas de corte com auxílio de radiotelemetria (Heat-Watch®). Verificou-se que a duração do estro em *Bos indicus* é menor do que em *Bos taurus* (12,9 ± 2,9 horas em Nelore vs. 16,3 ± 4,8 horas em Angus;) (MIZUTA, 2003). Apesar disso, o intervalo entre o início do estro e a ovulação não apresentou diferenças entre essas duas raças (Nelore, 27,1 ± 3,3 h vs. Angus, 26,1 ± 6,3 h).

Figura 16 - Taxa de detecção do estro nos tratamentos

Legenda: 1xPGF-5d: 25 mg de dinoprost trometamina aplicados 48 horas antes da remoção do CIDR® (D5); 2xPGF-0/7d: 12,5 mg aplicados em duas doses, sendo a primeira na inserção do CIDR® (D0) e a outra na retirada (D7).

O tempo médio para apresentação do estro não apresentou diferença ($P=0,560$) entre os tratamentos, e foi de $36,4 \pm 8,7$ horas após a retirada do dispositivo (Figura 17). Em estudo recente, Crepaldi (2009) descreveu que vacas *Bos indicus* paridas tratadas com dispositivos intravaginais previamente utilizados por 8 ($72,0 \pm 0,0h^{ab}$) ou por 16 ($68,0 \pm 2,0h^b$) dias apresentam menor intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação em relação às fêmeas tratadas com dispositivos novos ($74,4 \pm 1,6h^a$), o menor intervalo de tempo para a ocorrência da ovulação em dispositivos utilizados por mais de 16 dias, pode impactar também no menor tempo para apresentação do estro. Talvez devido ao baixo número de vacas ciclando no início do experimento, não foi possível detectar diferença entre os tratamentos, em relação a dosagem e ao momento da aplicação de $PGF_{2\alpha}$.

Biehl et al. (2011), utilizaram protocolos de 7 e 9 dias utilizando dispositivos de segundo uso, associado com a aplicação de eCG, $PGF_{2\alpha}$ e 0,25 ml de ECP na retirada do dispositivo, obtiveram a média de $43,5 \pm 5,7$ horas para a apresentação de estro. O menor tempo para apresentação do estro provavelmente foi

influenciado pelo dispositivo (terceiro uso) que foi utilizado no protocolo de sincronização do estro.

A detecção de estro apesar de não ser utilizada em protocolos onde preconiza-se a IATF, ela ajuda explicar muitos fatores inerentes a fertilidade e eficiência do protocolo de sincronização do estro. Vacas que não são detectadas em estro possuem um tamanho do folículo dominante menor, podendo resultar em menores concentrações de estradiol (PERRY et al., 2005, 2007), consequentemente menores concentrações de estradiol podem resultar em luteólise prematura no ciclo estral subsequente (SANTOS et al., 2004), reduzindo assim a taxa de prenhez por motivo da perda embrionária (BARUSELLI et al., 2003). Segundo Sá Filho et al. (2001), a ocorrência do estro é um importante fator associado com um maior diâmetro folicular à IATF, uma boa concentração de progesterona durante a subsequente fase luteal e uma ótima taxa de prenhez à IA.

A distribuição da apresentação do estro, não difiriu ($P=0,835$) entre os tratamentos apresentando curvas similares, como pode ser observada na figura 18.

Figura 17 - Tempo médio para detecção do estro nos tratamentos experimentais

Legenda: 1xPGF-5d: 25 mg de dinoprost trometamina aplicados 48 horas antes da remoção do CIDR® (D5); 2xPGF-0/7d: 12,5 mg aplicados em duas doses, sendo a primeira na inserção do CIDR® (D0) e a outra na retirada (D7).

Figura 18 - Distribuição da detecção de estro acumulada nos tratamentos experimentais

Legenda: 1xPGF-5d: 25 mg de dinoprost trometamina aplicados 48 horas antes da remoção do CIDR (D5); 2xPGF-7d: 12,5 mg aplicados em duas doses, sendo a primeira na inserção do CIDR (D0) e a outra na retirada (D7).

A detecção do estro foi iniciada no mesmo dia da retirada do dispositivo, porém como pode ser observado na figura 19, as vacas somente iniciaram a apresentação do estro 24 horas após a retirada do dispositivo de P₄.

6.4.2 Taxa de prenhez

A taxa de concepção e prenhez na IATF não diferiu ($P=0,975$) entre os tratamentos, e as médias foram 59,6% (56/94) e 59,8% (58/97) para os tratamentos 1xPGF-5d e 2xPGF-0/7d respectivamente (Tabela 4). A taxa média de concepção e prenhez foi de 59,7% (114/191). Segundo Sá Filho et al. (2009), normalmente as taxas de prenhez quando utiliza-se protocolos de sincronização do estro a base de BE+CIDR, variam em torno de 49,6%.

Tabela 4 - Taxa de prenhez dos tratamentos experimentais

	TRATAMENTOS		Valor de P=
	1xPGF-5d	2xPGF-0/7d	
Taxa de prenhez na IATF ¹ (%)	59.5	59.7	0,975
Taxa de prenhez Final ² (%)	82.9	86.6	0,782

¹ Taxa de prenhez na IATF; ² Taxa de prenhez ao final da estação de monta; 1xPGF-5d: aplicação de 25mg de dinoprost trometamina no 5º dia do protocolo de sincronização; 2xPGF-0/7d: 12,5 mg aplicados em duas doses, sendo a primeira na inserção do CIDR (D0) e a outra na retirada (D7).

Rocha et al. (2007), trabalharam com a sincronização de fêmeas da raça Nelore utilizando dispositivos reutilizados (CIDR), sendo que o protocolo utilizado foi semelhante ao do presente estudo (7dias), e encontraram a taxa de concepção média de 42,0%, não diferindo entre a reutilização e/ou uso de dispositivos novos. Sá Filho et al. (2009), estudaram o efeito da mamada controlada e doses de eCG no protocolo de 9 dias, com aplicação de cipionato de estradiol na retirada do dispositivo e obtiveram taxa de concepção de 57,7% para os animais que receberam 300 UI de eCG. Já Menenghetti et al. (2009), quando utilizaram um protocolo de 9 dias com CIDR de terceiro uso (27 dias/uso) associado com a remoção de bezerros por 48 horas, obtiveram uma taxa de prenhez de 50,5%.

Segundo diversos autores tanto em bovinos de corte como leiteiros, a utilização de dispositivos de progesterona reutilizados para realização da sincronização do estro possui resultados semelhantes aos observados na utilização de dispositivos novos, quando a variável é a taxa de prenhez (VALENTIN, 2004; COLAZO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2009).

A reutilização do dispositivo de progesterona (máximo de 3 vezes), não altera o desenvolvimento folicular em vacas no pós-parto, provavelmente devido a alta incidência de animais em anestro (MENGHETTI et al., 2009). A grande incidência de vacas em anestro no presente experimento pode ter influenciado na taxa de prenhez, pois um dos motivos de utilizarmos a dose de PGF_{2α} 48 horas antes da retirada do CIDR, é de reduzirmos a concentração de progesterona para favorecer o desenvolvimento folicular e capacidade esteroidogênica (BRIDGES et al., 2004), aumentando o intervalo entre o início do proestro e ovulação, afetando a secreção de LH (SAVIO et al., 1993).

Porém, quando realizamos a observação de estro no repasse (período do D22 ao D32), apenas 5 vacas retornaram ao estro e foram inseminadas, porém

durante a análise dos dados, elas foram inseridas no repasse com touros. Neste caso provavelmente as vacas retornaram ao anestro, pois durante o processo de sincronização elas apresentavam um ECC baixo ($2,50 \pm 0,32$), e como já citado o desempenho reprodutivo está intimamente ligado ao bom ECC (GOTTSCHELL, 2002).

A taxa de prenhez à IATF, não foi influenciada pelos tratamentos, porém os animais que apresentaram estro (69,5%), obtiveram uma taxa de prenhez à IATF superior ($P=0,001$) aos que não apresentaram estro (46,9%; Figura 19). Fato este que pode ser explicado levando em consideração o trabalho realizado por Sá Filho et al. (2011), onde as vacas que apresentaram estro possuíam um maior ($P<0,0001$) folículo dominante no momento da retirada do CIDR ($11,9 \pm 1,7$, $8,1 \pm 3,1$ mm). O folículo ovulatório no momento da IATF, foi maior ($P<0,0001$) para as vacas que apresentaram estro ($13,9 \pm 3,3$; $9,5 \pm 4,2$ mm). Contudo as vacas que apresentaram estro, obtiveram uma maior ($P=0,02$) taxa de ovulação, que foi de 100% para as que apresentaram estro e 70,6% para as que não apresentaram. Além disso, a concentração de progesterona no sétimo dia após a IATF, foi superior ($P<0,0001$) em 1,2 ng/ml para as vacas que apresentaram estro ($4,2 \pm 1,6$; $3,0 \pm 1,2$ ng/ml para as vacas detectadas em estro e as não detectadas, respectivamente).

Ao compilar os dados de apresentação de estro e a taxa de prenhez à IATF, observou-se efeito significativo ($P<0,0001$) na prenhez com relação ao tempo para detecção de estro, onde as vacas que apresentaram estro no intervalo após as 36 horas, foram superiores as que apresentaram estro antes das 36 horas, sendo que as médias foram de 85,2^a, 77,0^a e 31,8^b% de prenhez na IATF, respectivamente. Analizando estes dados podemos concluir que não é só importante a apresentação do estro durante o protocolo de sincronização, mas sim a apresentação do mesmo após 36 horas da retirada do CIDR, quando realiza-se a IATF em 50 horas (Figura 19).

Figura 19 - Taxa de prenhez na IATF de acordo com o tempo para detecção do estro e a taxa de detecção do estro

Legenda: 1xPGF-5d: 25 mg de dinoprost trometamina aplicados 48 horas antes da remoção do CIDR (D5); 2xPGF-7d: 12,5 mg aplicados em duas doses, sendo a primeira na inserção do CIDR (D0) e a outra na retirada (D7). IATF realizada 50 horas após a retirada do CIDR.

A taxa de prenhez ao final da estação de monta (IATF+Touros) não diferiu ($P=0,782$) entre os tratamentos, e foi de 82,9 e 86,6 % para os tratamentos 1xPGF-5d e 2xPGF-0/7d respectivamente. Tendo em vista o grande número de animais em anestro, e comparando-se aos obtivos na literatura, o resultado encontrado ao final da estação de monta pode ser considerado bom. No trabalho de Rocha et al. (2007), após a realização da IATF, as vacas foram submetidas ao repasse com touros, e obtiveram uma taxa de prenhez média de 78,9% para o grupo que recebeu 300UI de eCG, resultado semelhante ao encontrado em nosso estudo.

A elevação nos índices de fertilidade, encontrados no presente experimento ao final da estação de monta, não se pode afirmar que tenha ocorrido somente pelo efeito do reprodutor. É possível atribuir também à compensação da disfunção luteal decorrente da quantidade de progesterona liberada pelo implante insuficiente para

promover uma gestação num primeiro momento, porém, adequada para promover a retomada da ciclicidade como sugerida por King et al. (1986), ou ainda pela insuficiente produção do hormônio luteinizante após a retirada do implante, conforme referiram-se Hixon et al. (1981), bem como em decorrência da combinação entre esses e outros fatores, como relatado por Jöchle (1993). Além disso, durante a estação de monta, as vacas estavam submetidas à pastagens de boa qualidade, o que contribuiu para melhora do balanço energético e ECC, consequentemente, saírem do anestro nutricional e ficarem prenhas.

5.5 Conclusões

O protocolo 7dCIDR+BE com aplicação de 12,5mg de PGF_{2α} na inserção e na retirada do CIDR, apresentou bons índices reprodutivos, sendo eficiente em sincronizar vacas no anestro pós-parto.

A redução de 4 para 3 manejos no protocolo 7dCIDR+BE, não influenciou a taxa de detecção de estro, taxa de prenhez na IATF e no final da estação de monta.

Vacas detectadas em estro durante o protocolo de sincronização, apresentam um incremento na taxa de prenhez à IATF, quando comparadas as que não são detectadas em estro. Mesmo quando detectadas em estro, as vacas que apresentaram estro após 36 horas da retirada do CIDR, apresentaram uma taxa de prenhez superior às que apresentaram em até 24 horas, isso quando realizada a IATF 50 horas após a remoção do dispositivo de progesterona

6 CONCLUSÕES

A utilização de doses crescentes de prostaglandina não melhorou a taxa de prenhez em vacas Nelore submetidas aos protocolos de 5 e 7 dias de permanência do CIDR, porém a taxa de prenhez ao primeiro serviço foi maior no tempo de permanência do CIDR de 7 dias quando comparado ao tempo de 5 dias em vacas da raça Nelore.

A redução do tempo de permanência do dispositivo de 7 para 5 dias, necessita ser estudada quanto a dinâmica folicular, principalmente no âmbito dos efeitos do estradiol no desenvolvimento de uma nova onda folicular e consequências quanto a fertilidade obtida.

Em novilhas pré-puberes da raça Nelore, a aplicação de BE 48 horas após a retirada do CIDR, aumentou a detecção de estro, porém não aumentou a taxa de concepção a primeira IA, contudo houve um aumento da taxa de prenhez na primeira IA. Sendo que o efeito do tempo de permanência do CIDR, sobre a taxa de detecção do estro, taxa de concepção e taxas de prenhez na IA e no repasse com touros não foram detectados.

O protocolo 7dCIDR+BE com aplicação de 12,5mg de PGF_{2α} na inserção e na retirada do CIDR, apresentou bons índices reprodutivos, sendo eficiente em sincronizar vacas no anestro pós-parto. A redução de 4 para 3 manejos no protocolo 7dCIDR+BE, não influenciou a taxa de detecção de estro, taxa de prenhez na IATF e no final da estação de monta.

Vacas detectadas em estro durante o protocolo de sincronização, apresentam um incremento na taxa de prenhez à IATF, quando comparadas as que não são detectadas em estro.

Mesmo quando detectadas em estro, as vacas que apresentaram estro após 36 horas da retirada do CIDR, apresentaram uma taxa de prenhez superior às que apresentaram em até 24 horas, isso quando realizada a IATF 50 horas após a remoção do dispositivo de progesterona.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G. P.; EVANS, A. C.; RAWLINGS, N. C. Follicular waves and circulating gonadotrophins in 8-month-old prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 100, p. 27–33, 1994.
- ADAMS, G. P.; JAISWAL, R.; SINGH, J.; MALHI, P. Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 69, p. 72-80, 2008.
- AMARAL, T. B.; FERNANDES, C. E.; ALMEIDA, C. Q. Inseminação artificial em bovinos de corte. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. cap. 26, p. 513-528.
- ANDERSON, L. H.; McDOWELL, C. M.; DAY, M. L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 54, p.1025-1031, 1996.
- ARNDT, W. J.; HOLLE, A. J.; BAUER, M. L.; KIRSCH, J. D.; SCHIMEK, D. E. ODDE, K. G.; VONNAHME, K. A. Effect of post-insemination progesterone supplementation on pregnancy rate in dairy cows. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 73, p. 271-274. 2009.
- BARROS, C. M.; FERNANDES, P.; NOGUEIRA, M. F. G. Controle farmacológico do ciclo estral e superovulação em zebuínos de corte. In: MADUREIRA E. H.; BARUSELLI, P. S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo, FUNVET, 2000. p. 158-189.
- BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo horizonte, v. 26, p. 218–221, 2002.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82-83. p. 479-486, 2004.
- 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 dynamics 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, São Paulo, v. 40, p. 96–106, 2003.

BASTOS, M. R. **Influência da alta e baixa ingestão alimentar na função ovariana em *Bos Taurus indicus* e *Bos taurus taurus***. 2012. 133 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, SP, 2012.

BELLOWS, R. A.; SHORT, R. E. Effects of precalving feed level on birth weight, calving difficulty and subsequent fertility. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46, p. 1522-1528, 1978.

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: FUNVET, 2000. p. 99-114.

BO, G. A.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J. Dinâmica folicular ovárica em el bovino. In: MADUREIRA E.H., BARUSELLI, P. S. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**, São Paulo: FUNVET , 2000. p.12-34.

BO, 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 Reproduction Science**, Amsterdam, v. 39, p.193-204, 1995.

BO, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A.; TRIBULO, H.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R. Follicular waves dynamic after estradiol 17 β treatment of heifers with or without a progesterone implant. **Theriogenology**, Stoneham, v. 41, p. 1555-1569, 1994.

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

BO, G. A.; CUTAIA, I.; BARUSELLI, P. S. Programas de inseminacion artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina. **Anais...** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004. p. 56-81.

BOGACZ, V. L.; HUSTON, J. E.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Effect of estradiol benzoate in combination with progesterone to induce follicular turnover at various stages of the estrous cycle. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 83, p. 211, 2000. Abstract.

BOGACZ, V. L.; HUSTON, J. E.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Identification of the optimal dose of estradiol benzoate in combination with a progestin to program

follicular turnover in cyclic cattle. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 77, p. 124, 1999. Abstract.

BOLAND, M. P.; LONERGAN P.; O'CALLAGHAN, D. Effects of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology and oocyte and embryo development. **Theriogenology**, Stoneham, v. 55, p. 1323-1340, 2001.

BRAUNER, C. C.; PIMENTEL, M. A.; LEMES, J. S.; PIMENTEL, C. A.; MORAES, J. C. F. Reproductive performance of suckling beef and no-suckling beef cows submitted to estrus induction/synchronization. **Ciência Rural**, Santa Maria v.38, n 4, p.1067-1072. 2008.

BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Influence of duration of proestrus on circulating estradiol, the LH surge, and luteal function in cattle. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 82, p. 102, 2004. Abstract.

BRIDGES, G. A.; DAY, M. L.; PIRES, A. V. Aspectos fisiológicos da reprodução de fêmeas bovinas e otimização da sincronização do estro e da ovulação. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. cap. 34, p. 667-682.

BRIDGES, G. A.; HESSER, L. A.; GRUM, D. E.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; DAY, M. L. Decreasing the interval between GnRH to PGF_{2α} from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 69, p. 843-851, 2008.

BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Influence of duration of proestrus on circulating estradiol, the LH surge, and luteal function in cattle. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 82, p. 102, 2004. Supplement.

BURKE, C. R. **Regulation of ovarian follicular development with estradiol in cattle**. 2003. 135 f. Ph.D. Dissertation. The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA. Spring, 2003.

BURKE, C. R.; CARDENAS, H.; MUSSARD, M. L.; DAY, M. L. Histological and steroidogenic changes in dominant ovarian follicles during oestradiol-induced atresia in heifers. **Reproduction**, Cambridge v. 129, p. 611- 620, 2005.

BURKE, C. R.; CARDENAS, H.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; DAY, M. L. Steroidogenic changes and expression of Messenger RNA encoding steroidogenic enzymes, gonadotrophin receptors and cell-death signalling in the dominant ovarian follicle during oestradiol-induced atresia in heifers. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 99, p. 244-257, 2007.

BURKE, C. R.; MUSSARD, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose dependent

manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 60, p. 647-658, 2003.

BUTLER, W. R.; SMITH, R. D. Interrelationships between energy balance and post partum reproductive function in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, p. 767-783, 1989.

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

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

CHACUR, M. G. M.; MENEZES, C. M.; NETTO, L. J. B.; KRONKA S. N. Eficiência da meia dose de cloprostenol na submucosa vulvar nas taxas de indução do estro e de prenhez em vacas repeat-breeders, Nelore-chianina. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 3, p. 387-393, 2005.

CLARO JUNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; PERES, R. F. G.; AONO, F. H. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, Stoneham, v. 74, p. 903-911, 2010.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; SMALL, J. A.; WILDE, R. E.; WARD, D. R.; MAPLETOFT, R. J. Resynchronization of estrus in beef cattle: ovarian function, estrus and fertility following progestin treatment and treatments to synchronize ovarian follicular development and estrus. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ottawa, v. 48, p. 49-56, 2007.

CREPALDI, G. A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. 2009. 87 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2009.

CRUPPE, L. H.; SOUTO, L. A.; MAQUIVAR, M.; GUNN, P.; MUSSARD, M. L.; WOLFENSON, D.; PIRES, A. V.; BRIDGES, G. A.; DAY, M. L. Use of two coincident doses of PGF_{2α} with the 5-d CO-Synch + CIDR estrous synchronization program. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 88, p. 768, 2010, Abstract.

DAY, M. L.; BURKE, C. R.; PIRES, A. V. Uso do estrógeno exógeno visando coordenar o crescimento folicular, estro e ovulação. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010b. cap. 33, p. 637-652.

DAY, M. L.; BURKE, C. R.; TAUFA, V. K.; DAY, A. M.; MACMILLAN, A. L. The strategic to enhance fertility and submission rates of progestin-based estrus

sinchronization programs in dairy heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 78, p. 523-529, 2000.

DAY, M. L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; PIRES, A. V. Fatores que afetam a idade na puberdade em novilhas de corte. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010a. cap. 32, p. 637-652.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; GARCIA-WINDER, M.; ZALESKY, D. D.; SCHANBACHER, B. D.; KITTOCK, R. J.; KINDER, J. E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 31, p. 332 - 341, 1984.

DIAS, C. C.; WECHSLER, F. S.; DAY, M. L.; VASCONCELOS, J. L. M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin f2 α , treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, Stoneham, v. 72, p. 378–385, 2009.

DISKIN, M. G.; MACKEY, D. R.; ROCHE, J. F.; SREENAN, J. M. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 78, p. 345-353, 2003.

DOBSON, H.; KAMONPATANA, M. A. A review off emale cattle reproduction with special reference to a comparison between buffaloes, cows and zebu. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 77, p. 1–36, 1986.

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

DUNN, T. G.; MOSS, A. J. Effects of nutrient deficiencies and excesses on reproductive efficiency of livestock. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 1580-1593, 1992.

ERENO, R. L.; BARREIROS, T. R. R.; SENEDA, M. M.; BARUSELLI, P. S.; PEGORER, M. F.; BARROS, C. M. Taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes tratadas com progesterona associada à remoção temporária de bezerros ou aplicação de gonadotrofina coriônica eqüina. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 36, n. 5, p. 1288-1294, 2007.

EVANS, A. C. O.; ADAMS, G. P.; RAWLINGS, N. C. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. **Journal of Reproduction and Fertility**. Cambridge, v. 102, p. 463-470, 1994.

FERRAZ JUNIOR, M. V. C.; PIRES, A. V.; SARTORI, R.; BIEHL, M. V.; NEPOMUCENO, D. D.; SUSIN, I.; FERREIRA, E. M.; ROCHA, F. M.; GONCALVES, J. R. S.; CRUPPE, L. H.; Day, M. L. Different luteolytic doses of PGF_{2 α} in Nellore

cows on days 5 and 7 of the estrous cycle. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 90, (supplement 3), p. 325-326, 2012. Abstract.

FERRAZ, J. B. S. Impacto econômico da pecuária de leite e corte no Brasil, com o aumento da utilização da inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 20, p. 95-99, 1996.

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

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

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

GASSER, C. L.; BRIDGES, G. A.; MUSSARD, M. L.; DAUCH, D. M.; GRUM, D. E.; KINDER, J. E.; DAY, M. L. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 2050-2056, 2006c.

GASSER, C. L.; BURKE, C. R.; MUSSARD, M. L.; BEHLKE, E. J.; GRUM, D. E.; KINDER, J. E.; DAY, M. L. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 2042-2049, 2006b.

GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; MUSSARD, M. L.; FLUHARTY, F.; KINDER, J. E.; DAY, M. L. Induction of precocious puberty in heifers: I. Enhanced secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 2035-2041, 2006a.

HENAO, G.; OLIVERA-ANGEL, M.; MALDONADO-ESTRADA, J. G. Follicular dynamics during postpartum anestrus and the first estrous cycle in suckled or non-suckled brahman (*Bos taurus indicus*) cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 63 p. 127-136, 2000.

HIXON, D. L.; KESLER, D. J.; TROXEL, T. R.; VINCENT, D. L.; WISEMAN, B. S. Reproductive hormone secretions and first service conception rate subsequent to ovulation control with Synchro-Mate B. **Theriogenology**, Stoneham, v. 16, p. 219-229, 1981.

JESUS, V. L. T.; GABRIEL, A. M. A. Fatores que interferem na inseminação artificial: buscando soluções. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 22, p. 66-70, 1998.

JÖCHILE, W. Forty yeares of control of the oestrus cycle in ruminants. Progress made, unresolved problems and the potential impact of sperm encapsulation technology. **Reproduction, Fertility and Development**, Melbourne, v. 5, p. 587-594, 1993.

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

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 **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 51, p. 934-944, 1994.

KASIMANICKAM, R.; DAY, M. L.; RUDOLPH, J. S.; HALL, J. B.; WHITTIER, W. D. Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesterone-based synchronization protocol in beef cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 71, p. 762-767, 2009.

KASIMANICKAM, R.; COLLINS, J. C.; WUENSCHHELL, J.; CURRIN, J. C.; HALL, J. B.; WHITTIER, W. D. Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal drug release removal and gonadotropin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 66, p. 166–172, 2006.

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**, New York, v. 21, p. 475-485, 1995.

KINDER, J. E.; DAY, M. L.; KITTOCK, R. J. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**, Oxford, v. 34, p. 167-186, 1987.

KING, M. E.; ODDE, K. G.; LEFEVER, D. G.; BROWN, L. N.; NEUBAUER, C. J. Synchronization of estrus in embryo transfer recipients receiving demi-embryos with Syncro-Mate B or estrumate. **Theriogenology**, Stoneham, v. 26, p. 221-229. 1986.

VON KRUEGER, X.; HEUWIESER, W. Effects of flunixin meglumine and carprofen on pregnancy rates in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 93, p. 5140–5146. 2010.

LAMB, G. C.; LARSON, J. E.; GEARY, T. W.; STEVENSON, J. S.; JOHNSON, S. K.; DAY, M. L.; ANSOTEGUI, R. P.; KESLER, D. J.; DEJARNETTE, J. M.; LANDBLOM, D. G. descrever os demais autores Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2 α , and progesterone. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 3000-3009, 2006.

LOUREIRO, P. E. F. **Efeito do fotoperíodo na detecção do estro em fêmeas bovinas Nelore (*Bos Taurus indicus*) e cruzadas Red Angus x Nelore e Limousin x Nelore (*Bos taurus taurus*) manejadas em diferentes regiões do Brasil**. 2005. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade do Estado de São Paulo, Pirassununga, 2005.

MADUREIRA, E. H. Controle farmacológico do ciclo estral com o emprego de progesterona 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.

MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de eCG e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* no período pós-parto. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 4., 2003, Córdoba. **Anais...** Córdoba: [s.n.], 2003. p. 392.

MARSON, E. P. **Características reprodutivas e produtivas em novilhas compostas Montana tropical**, 2000. 177 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, PPG em Medicina Veterinária, Viçosa, 2000.

MARSON, E. P.; GUIMARÃES, J. D.; MIRANDA NETO, T. Puberdade e maturidade sexual em novilhas de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 28, n. 1, p. 3-12, 2004.

MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; MAPLETOFT, R. J. The use of CIDR-B devices in GnRH/LH based artificial insemination programs. **Theriogenology**, Stoneham, v. 53, p. 202-209, 2000.

MEMBRIVE, C.M.B. **Estudo da sincronização das ondas foliculares e das características de estros, por radiotelemetria, em novilhas cruzadas (*Bos indicus* x *Bos taurus*) tratadas com acetato de melengestrol e prostaglandina associados a hCG, GnRH ou 17b estradiol + progesterona**. 2000. 156f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

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

MIES FILHO, A. **Inseminação artificial**. 6. ed. Porto Alegre: Editora Sulina, 1987. v. 2, 750 p.

MIZUTA K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. 2003. 98 f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MOLLO, M. R.; RUMPF, R.; MARTINS, A. C.; MATTOS, M. C. C.; LOPES JR., G.; CARRIJO, L. H. D.; SARTORI, R. Ovarian function in Nelore heifers under low or high feed intake. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 35, p. 958, 2007. Supplement, 3.

MORAN, C.; QUIRKE, J. F.; ROCHE, J. F. Puberty in heifers: a review. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 18, p. 167-182, 1989.

MORENO, D.; CUTAIA, L.; TRIBULO, H.; TRIBULO, R.; VILLATA, M. L.; CACCIA, M.; BO, G. A. Effect of time of prostaglandin administration on pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. **Theriogenology**, Stoneham, v. 57, p. 552-559, 2002.

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

PERES, R. F. G.; CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O. G.; NOGUEIRA, G. P.; VASCONCELOS, J. L. M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, Stoneham, v. 72, p. 681-689, 2009.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Effect of ovulatory follicle size at time of GnRH injection on preovulatory serum concentrations of estradiol in beef cows. **Biology of Reproduction**, Champaign, v. 68, p. 330, 2003. Abstract.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C.; GREEN, J. A.; PARKS, T. E.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 102, p. 5268–5273. 2005.

PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; ROBERTS, A. J.; MACNEIL, M. D.; GEARY, T. W. Relationship between size of ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 85, p. 684–689, 2007.

PERRY, R. C.; CORAH, L. R.; COCHRAN, R. C.; BEAL, W. E.; STEVENSON, J. S.; MINTON, J. E.; SIMMS, D. D.; BRETHOUR, J. R. Influence of dietary energy on follicular development, serum gonadotropins, and first postpartum ovulation in suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3762–3773, 1991.

PFEIFER, L. F.; SIQUEIRA, L. G.; MAPLETOFT, R. J.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; COLAZO, M. G.; SINGH, J. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, Stoneham, v. 72, p. 1054-1064, 2009.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEIREDO, R. A.; DO VALLE, E. R.; ENCARNÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, Stoneham, v. 49, p. 667-681, 1998.

PINHEIRO, V. G.; SOUZA, A. F.; PEGORER, M. F.; SATRAPA, R. A.; ERENO, R. L.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. M. Effects of temporary calf removal and eCG on pregnancy rates to timed-insemination in progesterone-treated prostpartum Nelore cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 71, p. 519-524, 2009.

PIRES, A. V.; RIBEIRO, C. V. M.; SUSIN, I.; MENDES, C. Q. Aspectos Nutricionais na Reprodução de Bovinos de Corte. In: PIRES, A. V. **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. v. 01, cap. 30, p. 585-610.

PIRES, A. V.; RIBEIRO, C. C. M.; SUSIN, I.; MENDES, C. Q. Aspectos nutricionais na reprodução de bovinos de corte. In: _____ **Bovinocultura de corte**. Piracicaba: FEALQ, 2010. p. 585-609.

QUADROS, S. A. F.; LOBATO, J. F. P. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 33, p. 679-683, 2004.

RAJAMAHENDRAM, R.; TAYLOR, C. Follicular dynamics 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**, Cambridge, v. 92, p. 461-467, 1991.

RANDEL, R. D. Nutrition and post-partum re-breeding in cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 853-862, 1990.

RASBY, R. J.; DAY, M. L.; JOHNSON S. K.; KINDER, J. E.; LYNCH, J. M.; SHORT, R. E.; WETTEMANN, R. P.; HAFS, H. D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, Stoneham, v. 50, p. 55-63, 1998.

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

RICHARDS, M. W.; SPITZER, J. C.; WARNER, M. B. Effect of varying levels postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, p. 301-306, 1986.

ROCHA, J. M.; RABELO, M. C.; SANTOS, M. H. B.; CHAVES, R. M.; MACHADO, P. P.; FREITAS NETO, L. M.; OLIVEIRA, M. A. L. Eficiência reprodutiva de vacas Nelore submetidas a diferentes manejos na Região Agreste do Estado do Rio Grande do Norte. **Medicina Veterinária**, Recife, v. 1, n. 1, p. 58-61, 2007.

ROMANO, M.C. **Efeito do nível nutricional sobre a antecipação da idade à puberdade e caracterização de dinâmica folicular nos períodos pré e pós púbere em novilhas Nelore**, 1997. 103 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 1997.

RUIZ-CORTÉS, Z. T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos taurus indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 54, p. 211-220, 1999.

SÁ FILHO, M. F.; SANTOS, J. E. P.; FERREIRA, R. M.; SALES, J. N. S.; BARUSELLI, P. S. Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v. 76, p. 455-463, 2011.

SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.; LAMB, G.; VASCONCELOS, J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, Stoneham, v. 72, p. 210–208, 2009.

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

SÁ FILHO, O.G.; VASCONCELOS, J.L.M. Inseminação artificial em tempo fixo. In: **Bovinocultura De Corte**. Alexandre Vaz Pires. 1^o edição, Piracicaba, FEALQ, 2010. cap. 27, p: 529 - 546.

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

SARTORELLI, E. S.; CARVALHO, L. M.; BERGFELT, D. R.; GINTHER, O. J.; BARROS, C. M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 63, p. 2382–2394, 2005.

SARTORI, R.; HAUGHIAN, J. M.; SHAVER, R. D.; ROSA, G. J. M.; WILTBANK, M. C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Sciences**, Champaign, v. 87, p. 905–920, 2004.

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

SCHILLO, K. K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 1271–1282, 1992.

SCHILLO, K. K.; HALL, J. B.; HILEMAN, S. M. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 3994–4005, 1992.

SEMMELMANN, C. E. N.; LOBATO, J. F.; ROCHA, M. G. Efeito de sistemas de alimentação no ganho de peso e desempenho reprodutivo de novilhas Nelore acasaladas aos 17/18 meses. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 30, n. 3, p. 835–843, 2001.

SENGER, P. L. The estrus detection problem: new concepts, technologies, and possibilities. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 2745–2753, 1994.

SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; STAIGMILLER, R. A. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 799–806, 1990.

SINCLAIR, K. D.; ROOKE, J. A.; MCEVOY, T. G. Regulation of nutrient uptake and metabolism in pre-elongation ruminant embryos. **Reproduction Supplement**, Cambridge, v. 61, p. 371–385, 2003.

SMITH, M. W.; STEVENSON, J. S. Fate of dominant follicle, embryonal survival, end pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F_{2α} and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3743–3751, 1995.

STAGG K. Follicular development in long term anestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 38, p. 49–61, 1995.

TAUCK, S. A.; WILKINSON, J. R.; OLSEN, J. R.; JANITELL, J. N.; BERARDINELLI, J. G. Comparison of controlled internal drug release device and melengesterol acetate as progestin sources in an estrous synchronization protocol for beef heifers. **Theriogenology**, Stoneham, v. 68, p. 162–167, 2007.

TRIBULO H.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; GATTI, G.; TRIBULO, R.; CACCIA, M.; BO, G. A. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices, and eCG and transferred without estrus detection. **Theriogenology**, Stoneham, v. 57, p. 563-571, 2002.

TRIMBERGER, G. W. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. In: **Nebraska Agricultural Experimental Station Bull**, Lincoln, v.153, p. 26, 1948.

VALDEZ, K. E.; CUNEO, S. P.; GORDEN, P. J.; TURZILLO, A. M. The role of thecal androgen production in the regulation of estradiol biosynthesis by dominant bovine follicles during the first follicular wave. **Journal of Animal Sciences**, Champaign, v. 83, p. 597-604, 2005.

VALENTIM, R. **Concentrações plasmáticas de progesterona e eficiência reprodutiva de diferentes dispositivos de liberação lenta de progesterona usados em inseminação artificial em tempo fixo**. 2004. 88 f. Tese (Doutorado Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

VASCONCELOS, J. L. M. **Avaliação da sincronização de ovulação e fatores relacionados com a produção de leite e taxa de concepção em vacas**. Jaboticabal, 1998 116 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 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**, Champaign, v. 72, p. 174, 1994, Abstract.

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

WALKER, W. L.; NEBEL, R. L.; MCGILLIARD, M. L. Time of ovulation relative to mounting activity in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champeign, v. 79, p. 1555-1561, 1996.

WHITTIER, W. D.; KASIMANICKAM, R. K.; CURRIN, J. F.; SCHRAMM, H. H.; VLCEK, M. Effect of timing of second prostaglandin F₂ alpha administration in a 5-day, progesterone-based CO-Synch protocol on AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology**, Stoneham, v. 74, p. 1002-1009, 2010.

WILLIAMS, G. L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: A review. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 831-852, 1990.

WILTBANK, M. C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of

anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, Stoneham, v. 57, p. 21-52, 2002.

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

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