

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

**CATIA APARECIDA FERREIRA**

**Taxa de prenhez em novilhas da raça nelore sincronizadas com  
dispositivos intravaginais de diferentes concentrações de  
progesterona**

São Paulo  
2023

CATIA APARECIDA FERREIRA

**Taxa de prenhez em novilhas da raça nelore sincronizadas com dispositivos  
intravaginais de diferentes concentrações de progesterona**

VERSÃO CORRIGIDA

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

**Departamento:**

Nutrição e Produção Animal

**Orientador:**

Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira

São Paulo  
2023

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

### DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

4308  
FMVZ

Ferreira, Catia Aparecida

Taxa de prenhez em novilhas da raça Nelore sincronizadas com dispositivos intravaginais de diferentes concentrações de progesterona / Catia Aparecida Ferreira. – 2023.  
45 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Reprodução Animal, São Paulo, 2023.

Programa de Pós-Graduação: Reprodução Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ed Hoffmann Madureira.

1. Novilhas nelores. 2. IATF. 3. Hormônios. 4. Protocolo. 5. Eficiência reprodutiva. I. Título.



## CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Taxa de prenhez em novilhas Nelore com emprego de dispositivos intravaginais com diferentes doses de progesterona", protocolada sob o CEUA nº 1432231019 (ID 007800), sob a responsabilidade de **Ed Hoffmann Madureira e equipe; Catia Aparecida Ferreira** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 29/04/2020.

We certify that the proposal "Pregnancy rates of Nelore heifers using devices with different progesterone concentrations", utilizing 800 Bovines (800 females), protocol number CEUA 1432231019 (ID 007800), under the responsibility of **Ed Hoffmann Madureira and team; Catia Aparecida Ferreira** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 04/29/2020.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de 10/2020 a 05/2021 Área: **Reprodução Animal**

Origem: **Animais provenientes de estabelecimentos comerciais**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **14 a 26 meses**

Quantidade: **800**

Linhagem: **Nelore**

Peso: **300 a 450 kg**

São Paulo, 04 de fevereiro de 2023

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Universidade de São Paulo



## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: FERREIRA, Catia Aparecida

Título: Taxa de prenhez em novilhas da raça Nelore sincronizadas com dispositivos intravaginais de diferentes concentrações de progesterona

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

Data: 14/04/2013

### Banca Examinadora

Prof.Dr.: Ed Hoffman Madureira  
Instituição: FMVZ – USP

Julgamento: Aprovada

Prof.Dr.: Luciano Andrade Silva  
Instituição: FMVZ – USP

Julgamento: Aprovada

Prof.Dr.: Gustavo Freitas Ilha  
Instituição: Externo

Julgamento: Aprovada

## **DEDICO**

Aos meus aos meus filhos Guilherme e Mell, minha razão de viver.

Ao professor Ed Hoffmann por ter me aceitado e orientado na vida acadêmica e além dela. Professor tenho uma eterna gratidão a DEUS por te-lo colocado em meu caminho. Que Deus te abençoe sempre.

**MUITO OBRIGADA!**

## AGRADECIMENTO

A Deus imensamente por estar comigo nesta caminhada, pela proteção e por me guiar diante das dificuldades.

Ao meu filho Guilherme a quem tenho que ser sempre modelo de inspiração e por me fazer acreditar com a frase “Tenho orgulho de você mãe”.

Ao meu esposo, Dennis que suportou ao meu lado momentos difíceis e fez acreditar que a chegada era logo ali. Te amo!

Aos meus padrinhos Pedro e Thereza pelo carinho e dedicação, amo vocês!

Ao Professor DR. Luciano Andrade Silva e DR. Gustavo Ilha (Select Sires) por terem aceitado participar da minha banca. É uma grande honra!

À minha amiga Gabi que mesmo tão distante esteve tão presente. Sem você este trabalho não seria concluído. Obrigada. Te amo!

À minha amiga Babi que por inúmeras vezes segurou minha mão, me recebeu de braços abertos no LFER. Você é a irmã que Deus me presenteou. Te amo!

À empresa Boehringer Ingelheim por conceder a bolsa de pesquisa.

À Biogênese Bagó por conceder fomentos para realização deste projeto.

Ao meu amigo Reuel que esteve presente quando mais precisava de auxílio para finalizar o projeto no campo. Muito obrigada!

Ao Med. Vet. Thiago Cavalcanti pelo auxílio e dedicação na realização deste projeto.

A querida Harumi pela paciência e dedicação. Muito obrigada!

Por fim às novilhas que participaram deste projeto. Obrigada fofinhas!

*"Todo mundo é um gênio. Mas se você julgar um peixe por sua capacidade de subir em árvores, ele passará toda sua vida acreditando ser estúpido".*  
*(Albert Einstein)*



## RESUMO

FERREIRA, C. A. **Taxa de prenhez em novilhas da raça Nelore sincronizadas com dispositivos intravaginais de diferentes concentrações de progesterona.** 2023. 45 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

Muitas pesquisas são desenvolvidas para maximizar a eficiência produtiva dos rebanhos bovinos. Cada vez mais, existe a necessidade de utilizar biotécnicas da reprodução. No Brasil, as novilhas geralmente atingem a puberdade entre os 20 e 24 meses. No entanto, melhores resultados podem ser alcançados se a fêmea iniciar sua vida reprodutiva aos 14 meses. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência de um novo dispositivo de progesterona no protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) na taxa de prenhez de novilhas de corte. Para isso, foram utilizadas 771 novilhas da raça Nelore (*Bos Indicus*). No Dia 0, um grupo de 86 novilhas recebeu, aleatoriamente por via intramuscular (IM), 5,5 mg de 17-Estradiol + 50 mg de Progesterona (Betaproginn® — Boehringer Ingelheim) + 530 mcg de Cloprostenol Sódico (Cioprostinn® — Boehringer Ingelheim), enquanto um grupo de 685 novilhas recebeu por via intramuscular (IM) 2 mg de Benzoato de Estradiol (Bioestrogen® — Biogênese Bagó) + 150 µg de D-Cloprostenol (Croniben® — Biogênese Bagó). As novilhas foram então divididas em dois grupos: G1 (n=342), que recebeu um dispositivo intravaginal (Progestar® — Biogênese Bagó) contendo 0,96 g de Progesterona (duas peças de silicone medicadas com Progesterona), e G2 (n=343), que recebeu um dispositivo intravaginal (Progestar® — Biogênese Bagó) contendo 0,48 g de Progesterona (uma peça medicada e outra não medicada). No Dia 8 ou 8,5, os dispositivos foram retirados e administrados por via intramuscular (IM) 150 µg de D-Cloprostenol (Croniben® — Biogênese Bagó) + 200 UI (IM) de Gonadotrofina Coriônica Equina (Ecegon® — Biogênese Bagó) + 1 mg (IM) de ECP (Croni-Cip® — Biogênese Bagó) ou 1 mg de Benzoato de Estradiol (Bioestrogen® — Biogênese Bagó). No Dia 10, as novilhas foram inseminadas em tempo fixo. Foram realizadas análises ultrassonográficas em todos os animais no Dia 0 e em um subgrupo (n=290) no Dia 8 ou 8,5 e Dia 10 para mensurar os folículos pré-ovulatórios. Os resultados obtidos na taxa de prenhez para os diferentes tratamentos (0,96 g de Progesterona e 0,48 g de Progesterona, respectivamente) foram: 49,03% e 49,69% (p=0,8607). Os resultados para o tamanho médio dos

folículos na retirada do implante, segundo os tratamentos (0,96 g de Progesterona e 0,48 g de Progesterona, respectivamente), foram: 9,69 mm  $\pm$  0,21 mm e 10,38 mm  $\pm$  0,21 mm. Os resultados para o tamanho médio dos folículos no dia da inseminação, segundo o protocolo (0,96 g de Progesterona e 0,48 g de Progesterona, respectivamente), foram: 9,94  $\pm$  0,31 mm e 10,14  $\pm$  0,32 mm. Não houve interação entre o tratamento e o tamanho do folículo na retirada do implante e na inseminação, respectivamente ( $p=0,24$ ;  $p=0,64$ ). Após o trabalho, concluiu-se que o uso de dispositivos intravaginais com menores quantidades de progesterona podem ser suficientes para manter os níveis séricos de Progesterona em novilhas púberes. Constatou-se também que os níveis das taxas de ovulação e prenhez foram mantidos. Isso contribui para a manutenção da eficiência reprodutiva e o aumento da produtividade nas propriedades.

Palavras-chave: Novilhas Nelore. IATF. Hormônios. Protocolo. Eficiência Reprodutiva.

## ABSTRACT

FERREIRA, C. A. **Pregnancy rate in Nelore heifers synchronized with intravaginal devices of different progesterone concentrations.** 2023. 45 f. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2023.

Efforts to maximize the reproductive efficiency of cattle herds have led to an increased adoption of reproductive biotechnologies. In Brazil, heifers typically reach puberty between 20 and 24 months of age; however, more favorable outcomes can be achieved if reproductive processes are initiated at 14 months of age. The objective of this study was to evaluate the effects of a novel intravaginal progesterone (P4) device within a Fixed-Time Artificial Insemination (FTAI) protocol on both pregnancy rates and the size of the dominant follicle in prepubertal beef heifers. The study involved 771 Nelore (*Bos indicus*) beef heifers, of which 86 were randomly selected to receive 5.5 mg of 17- $\beta$ -Estradiol (E2) + 50 mg of P4 (Betaproginn® – Boehringer Ingelheim) + 530  $\mu$ g of Sodium Cloprostenol (Cioprostinn® - Boehringer Ingelheim) intramuscularly (IM), while the remaining heifers (n=685) received 2 mg of E2 (Bioestrogen® - Biogênese Bagó) + 150  $\mu$ g of D-Cloprostenol (Croniben® – Biogenesis Bagó), IM. On the same day, the heifers were also sorted into two groups: 1) G1 (n=342), in which heifers received an intravaginal device containing 0.96 g of P4 (Progestar® – Biogênese Bagó – two P4-impregnated silicone elastomers); and 2) G2 (n=343), in which heifers received an intravaginal device containing 0.48 g of P4 (Progestar® - Biogênese Bagó – one P4-impregnated silicone elastomer and a second non-impregnated silicone elastomer). On Day 8 or 8.5, the P4 devices were withdrawn, and heifers received 150  $\mu$ g of D-Cloprostenol (Croniben® – Biogenesis Bagó) + 200 IU IM of Equine Chorionic Gonadotropin (eCG; Ecegon® – Biogenesis Bagó) + 1 mg IM of Estradiol Cypionate (EC; Croni-Cip® – Biogenesis Bagó); or 1 mg of E2 (Bioestrogen® – Biogênese Bagó). On Day 10, the heifers underwent timed AI. Ultrasound evaluations were performed in all heifers on Day 0 and in a subgroup (n=290) on Day 8 or 8.5 and Day 10 for the measurement of pre-ovulatory follicles. Pregnancy rates did not differ (P=0.86) between treatment groups (49.03% for G1 vs. 49.69% for G2). Heifers from G2 had larger (P=0.024) follicles on the day of the P4 device withdrawal compared with heifers from G1 (10.38 mm  $\pm$  0.21 mm vs. 9.69 mm  $\pm$  0.21 mm, respectively). The

P4 treatment, however, did not have significant effects ( $P=0.65$ ) on the size of the dominant follicle on the day of the FTAI (G1:  $9.94 \pm 0.31$  mm vs. G2:  $10.14 \pm 0.32$  mm). Thus, it can be inferred that utilizing intravaginal P4 devices with lower dosages of P4 could be sufficient to maintain suitable serum levels of P4 in prepubescent heifers. It was observed that the levels of ovulation and pregnancy rates were maintained. This contributes to the maintenance of reproductive efficiency and the increase in productivity on the properties.

Keywords: Nelore heifers. FTAI. Hormones. Protocol. Reproductive efficiency.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Modelo conceitual para mudanças endócrinas responsáveis para a ocorrência da puberdade em novilhas. ....	22
Figura 2 – Diagrama esquemático do manejo reprodutivo. ....	30
Figura 3 – Dispositivos intravaginais 0.48 gramas de progesterona e 0.96 gramas de progesterona. ....	31
Figura 4 – Taxa de prenhez aos 30 dias segundo lote. ....	32
Figura 5 – Diâmetro médio do FD na retirada de implante segundo tratamento. ....	33

## LISTA DE TABELA

Tabela 1 – Diâmetro médio FD na retirada e IATF por tratamento. ....	34
--	----

## LISTA DE ABREVIATURA

µg	micrograma
17β-E2	17β-estradiol
BE	benzoato de estradiol
D (Dia)	efeito de dia (análise estatística)
DG40	diagnóstico de gestação realizado 30 dias após a IATF
eCG	gonadotrofina coriônica equina
ECP	cipionato de estradiol
FD	folículo dominante
FSH	hormônio folículo estimulante
GnRH	hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	inseminação artificial
IATF	inseminação artificial em tempo fixo
IM	intramuscular
LH	hormônio luteinizante
mg	miligrama
P4	progesterona
PGF2α	prostaglandina F2α
SAS	Statistical Analysis System
TP	Taxa de prenhez
UI	unidades internacionais
US	ultrassonografia

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>HIPÓTESE E OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
2.1	Hipótese .....	19
2.2	Objetivo geral .....	19
2.3	Objetivos específicos.....	19
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>20</b>
3.1	Foliculogênese e Desenvolvimento Folicular .....	20
<b>3.1.1</b>	<b>Fisiologia da puberdade .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Protocolos de IATF em novilhas.....</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
4.1	Local do experimento e período de execução.....	27
4.2	Delineamento experimental.....	27
4.3	Análises estatísticas .....	29
<b>5</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>32</b>
5.1	Taxa de prenhez segundo tratamento e lote .....	32
5.2	Folículo dominante na retirada .....	33
5.3	Folículo dominante na IATF .....	33
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>38</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>39</b>



## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

O Brasil possui o maior rebanho comercial bovino do mundo, com aproximadamente 214,69 milhões de cabeças. Entre 1990 e 2018, ocorreu um crescimento na produtividade de 176%, o que contribuiu para que o país também se tornasse o maior exportador de carne bovina globalmente (ANUALPEC, 2019).

A eficiência reprodutiva é um fator de grande impacto econômico no agronegócio. Portanto, estratégias de manejo reprodutivo são necessárias para aumentar a lucratividade desse setor, visando maiores taxas de serviço e concepção.

Nesse contexto, vários protocolos hormonais foram desenvolvidos para permitir a sincronização do estro e a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), facilitando o manejo e melhorando a eficiência reprodutiva.

Com o aumento da demanda por produtos de origem animal, juntamente com os avanços tecnológicos, surgiram novas exigências, como rastreabilidade, qualidade da carne e segurança alimentar (INFORZATO et al., 2008). A IATF é uma biotécnica que acompanha esses avanços tecnológicos, sendo utilizada para aumentar a produção e sincronizar o estro de todas as fêmeas em um mesmo período, elevando a eficiência reprodutiva e as taxas de prenhez do rebanho, desde que aplicada corretamente (ROSSA et al., 2009).

Apesar de apresentar um aumento significativo e ter grandes perspectivas, a eficiência da pecuária brasileira ainda está abaixo de seu potencial. Dentre os fatores que afetam a produtividade, destacam-se a baixa adesão a programas de melhoramento genético, baixa eficiência alimentar, alta prevalência de doenças infecciosas e aspectos como a elevada idade ao primeiro parto e a alta incidência de mortalidade de bezerros (VIANNA, 1999). As falhas reprodutivas apresentam números significativos, limitando o avanço e crescimento da pecuária brasileira (ANUALPEC, 2005).

O desenvolvimento do animal está associado à maturidade sexual e à manutenção da gestação (TERASAWA; FERNADEZ, 2007). A maturidade sexual depende de fatores como sanidade, raça, peso, desenvolvimento corporal, fatores genéticos, manejo nutricional, estação do ano e tratamentos hormonais (NOGUEIRA, 2004; CARDOSO; NOGUEIRA, 2007; MORAIS; JAUME; SOUZA, 2007).

No mercado brasileiro de produtos veterinários, existem vários dispositivos intra-vaginais, medicados com P4, porém não há produtos específicos para as

diferentes categorias animais. Assim, um mesmo produto é indicado tanto para vacas quanto para novilhas, mesmo que as novilhas recebam doses de P4 acima do necessário, considerando que possuem, em média, 2/3 do peso de uma vaca adulta.

O que comumente se pratica nas fazendas é utilizar implantes novos nas vacas e reutilizá-los nas novilhas quando o teor de P4 nos dispositivos já foi reduzido devido ao primeiro uso.

São claras as desvantagens desse procedimento: 1) os dispositivos reutilizados são importantes fontes de transmissão de doenças infecciosas; 2) a liberação de P4 torna-se heterogênea nos dispositivos reutilizados; 3) a reutilização implica a higienização dos dispositivos, que nem sempre é eficiente, oferecendo risco de contaminação aos funcionários responsáveis pela higienização; e 4) não há controle sobre o destino da água utilizada nesse processo. Portanto, trata-se de um processo não sustentável.

O PROGESTAR® (Biogenesis Bagó) é um dos produtos de uso único oferecidos ao mercado pecuário. Ele contém duas peças de silicone medicadas com 0,48g de P4 cada, perfazendo uma dose total de 0,96g de P4. O produto é registrado no MAPA, e a recomendação de uso tanto para novilhas quanto para vacas é de duas peças de silicone medicadas, encaixadas em uma haste de sustentação, para que o dispositivo permaneça na cavidade vaginal por 7 a 9 dias. Após o uso, as peças de silicone devem ser descartadas. Portanto, é possível observar que seria interessante montar um dispositivo contendo apenas uma peça medicada e outra sem P4, o que poderia ser útil para a sincronização das ovulações em novilhas.

Tal procedimento não altera a estabilidade do produto nem aumenta o risco de efeitos colaterais. No entanto, é essencial realizar um teste de eficácia para certificar-se de que a dose pode ser reduzida para uso em novilhas de corte.

## **2 HIPÓTESE E OBJETIVOS**

### **2.1 Hipótese**

O uso de dispositivos intravaginais com menor dose de P4 permitirá o desenvolvimento folicular adequado, sem interferir nas taxas de ovulação e prenhez.

### **2.2 Objetivo geral**

Comparar as taxas de prenhez em novilhas da raça Nelore (*Bos Indicus*) utilizando o dispositivo Progestar®, que contém 0,96 g de P4, em comparação ao dispositivo Progestar® com 0,48 g de P4.

### **2.3 Objetivos específicos**

Comparar o tamanho do folículo dominante nos momentos da retirada do dispositivo vaginal (D8 ou D8,5) e da IATF (D10).

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Foliculogênese e Desenvolvimento Folicular

A foliculogênese e a dinâmica folicular possuem grande importância para a sincronização do estro e para o uso em biotecnologias da reprodução. A partir do momento em que o folículo primordial emerge da reserva, passa por fases de crescimento, maturação, regressão ou ovulação (HANSEL; CONVEY, 1983).

De maneira histológica, o desenvolvimento folicular ocorre em diferentes estágios, classificados da seguinte forma:

- a) Folículo primordial – Pequeno e composto por um oócito cercado por células somáticas achatadas.
- b) Folículo primário – Um oócito cercado por uma camada de células cúbicas localizado na periferia do córtex ovariano (ERICKSON, 1966).
- c) Folículo secundário – Um oócito cercado por várias camadas de células cúbicas dispostas simetricamente, também conhecido como folículo pré-antral. Nessa fase, ocorre a formação da membrana pelúcida. As células da teca são formadas a partir de células mesenquimais e a membrana basal é estabelecida com vascularização independente (HIRSHFIELD, 1991).
- d) Folículo terciário – Apresenta volume inalterado e pequenas cavidades que formam o antro. Origina-se do acúmulo de secreções das células da granulosa. Seu diâmetro pode atingir de 300 a 400  $\mu$  (TURNBULL et al., 1977).
- e) Folículo pré ovulatório ou folículo de Graaf – As células da granulosa estão localizadas na periferia e há uma grande quantidade de líquido ao redor do folículo. Na borda do folículo, encontram-se as células da teca, que iniciam a esteroidogênese ovariana (TOUATI et al., 1989).

O ciclo estral é dividido em duas fases distintas: fase folicular, também conhecida como fase estrogênica, e fase luteínica ou progestacional. De forma mais detalhada, o ciclo é dividido em quatro fases distintas: estro (6 a 18 horas), metaestro (2 dias), diestro (15 dias) e proestro (3 dias). Cada fase possui predominância de hormônios específicos (FERREIRA, 2010).

Segundo Furtado et al. (2011), a fase folicular é caracterizada pela regressão do corpo lúteo e se estende até o momento da ovulação. Durante a fase luteínica, o corpo lúteo predomina e produz progesterona.

A fase luteínica compreende o período entre a ovulação, quando o corpo lúteo se forma e inicia a liberação de P4, até sua regressão. Essa fase tem início aproximadamente no 5º dia do ciclo estral e é caracterizada pelo crescimento do corpo lúteo, aumentando a produção de progesterona. Em média, no 10º dia, o corpo lúteo atinge seu diâmetro máximo. A partir do 5º dia, o corpo lúteo começa a responder ao efeito da prostaglandina F2 $\alpha$  (PGF), resultando em declínio dos níveis de progesterona para valores basais (HAFEZ et al., 2004).

Durante a fase folicular, ocorrem o proestro e o estro. No proestro, há uma diminuição nos níveis de progesterona devido à luteólise provocada pela PGF, seguida pelo desenvolvimento dos folículos e aumento dos níveis de estradiol. Nessa etapa, o hipotálamo libera o hormônio liberador de gonadotropina (GnRH), estimulando a hipófise a secretar hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (VALLE, 1991).

O hipotálamo libera GnRH, estimulando assim a adeno-hipófise a secretar FSH e LH, que, por sua vez, interagem com as células da granulosa e da teca para promover o desenvolvimento dos folículos. O FSH atua no início do desenvolvimento folicular até o momento da divergência folicular. Em seguida, o LH mantém o crescimento e a maturação do folículo (HAFEZ et al., 2004).

Os folículos são responsáveis pela secreção de estradiol (E2), que por sua vez está intimamente relacionado à manifestação do cio, que ocorre durante o estro.

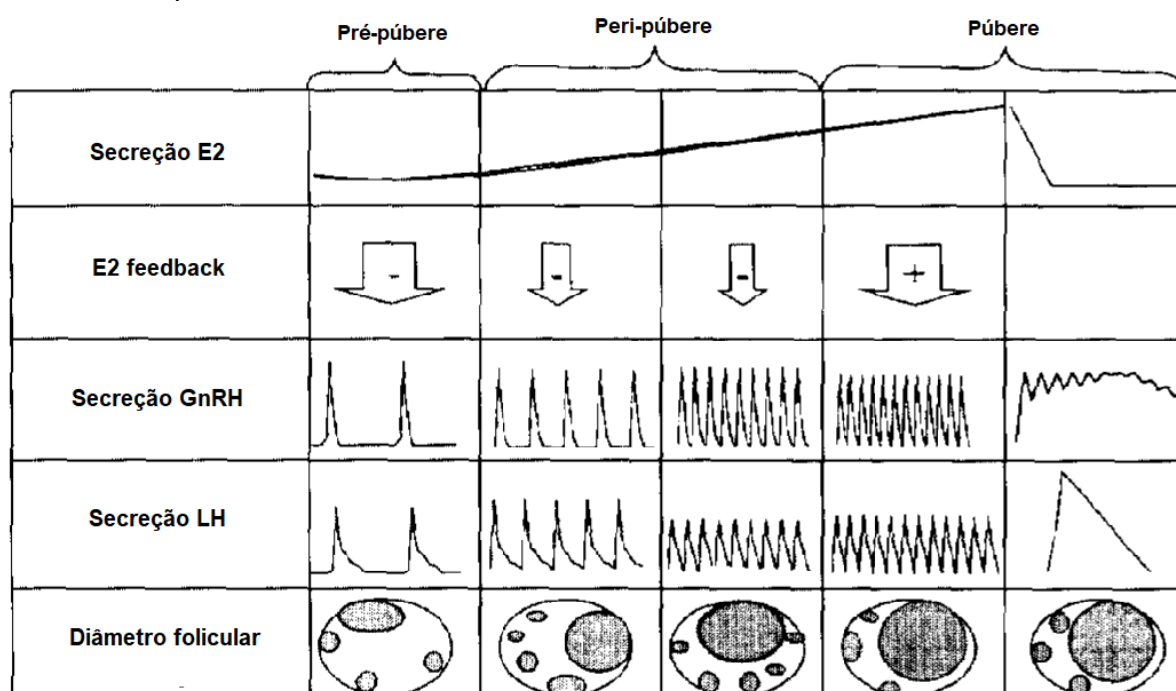
### **3.1.1 Fisiologia da puberdade**

A adolescência pode ser definida como o período de transição entre a imaturidade e a maturidade sexual, resultando na capacidade reprodutiva para produzir descendentes (NOGUEIRA, 2004). Da mesma forma, o evento da puberdade pode ser definido como o primeiro período de estro, culminando com a ovulação reprodutiva (WILTBANK; KASSON; INGALLS, 1969; SCHILLO; HALL; HILEMAN, 1992; NOGUEIRA, 2004).

Fisiologicamente, a puberdade em novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus* é caracterizada por um aumento na concentração e frequência dos pulsos de hormônio

luteinizante (LH) e uma diminuição na sensibilidade do hipotálamo aos esteroides gonadais, com ou sem envolvimento do hipotálamo. Os eventos fisiológicos associados à ovulação inicial foram semelhantes em novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus*, ocorrendo mais tardiamente em zebuínos (CARDOSO; NOGUEIRA, 2007), como demonstrado na Figura 1.

Figura 1 – Modelo conceitual para mudanças endócrinas responsáveis para a ocorrência dapuberdade em novilhas.



Fonte: Adapt. Day; Anderson (1998).

O eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é responsável pelo controle do ciclo estral, atuando de forma linear entre o hipotálamo, a hipófise e as gônadas (PALHANO, 2008). A atuação hormonal é controlada por mecanismos de feedback, podendo ser negativo quando a liberação de determinado hormônio inibe o eixo, ou positivo quando há estímulo para a produção de um determinado hormônio (FERREIRA, 2010).

Os principais hormônios controlados pelo eixo são: 1) Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GnRH), produzido pelo hipotálamo; 2) Hormônio Folículo Estimulante (FSH) e 3) Hormônio Luteinizante (LH), ambos sintetizados pela hipófise; 4) Estradiol (E2), produzido pelo folículo; 5) Progesterona (P4), produzida pelo corpo lúteo; e 6)

Prostaglandina 2alfa (PGF), cuja produção é responsabilidade do útero (FERREIRA, 2010).

Após o nascimento, mecanismos endócrinos não permitem que a bezerra ative seu sistema reprodutivo até atingir 65% a 70% do peso adulto (SEMMELMANN et al., 2001). No entanto, estudos mais recentes constataram maior retorno econômico quando as novilhas entram em estação reprodutiva com 50% a 57% do peso corporal adulto (ENDECOTT et al., 2013).

Do nascimento até o início da puberdade, esse período pode ser dividido em quatro fases distintas: fase infantil (0-2 meses de idade), fase de desenvolvimento (2-6 meses de idade), fase estática (6-10 meses de idade) e fase peripuberal, marcada de 40 a 60 dias que antecedem a ovulação (DAY; ANDERSON, 1998; NOGUEIRA, 2004).

Na fase infantil, são observadas baixas concentrações séricas de LH devido à baixa resposta do eixo hipofisário ao GNRH. Posteriormente, ocorre um aumento na secreção de GNRH, assim como na resposta hipofisária ao GNRH, resultando em maior liberação de LH. Esse estímulo ao desenvolvimento gonadal aumenta as concentrações circulantes de estradiol. Nesse momento, é observado o mecanismo de feedback negativo ao estradiol, com diminuição na liberação de LH, que ocorre dos 3 aos 6 meses de idade, em resposta ao início da atividade esteroideogênica (DAY; ANDERSON, 1998).

Após esse período, por volta dos 6 a 8 meses de idade, ocorre a regulação de LH em níveis baixos, caracterizando a fase estática. Nessa fase, o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é completamente responsivo e funcional, porém, devido ao feedback negativo ao estradiol, é incapaz de fornecer quantidades suficientes de LH. Além disso, ocorre a formação de folículos dominantes nos ovários. A aquisição da capacidade reprodutiva ocorre quando o feedback negativo ao estradiol deixa de acontecer, ocorrendo liberação suficiente de LH, o que estimula um maior desenvolvimento folicular e, conseqüentemente, a ovulação. Em novilhas, esses eventos ocorrem no período peripuberal (DAY; ANDERSON, 1998).

Assim sendo, do ponto de vista endócrino, a puberdade é alcançada após a diminuição do feedback negativo ao estradiol, aumento da liberação de GNRH, ocasionando o crescimento folicular e maiores concentrações de LH e, conseqüentemente, a primeira ovulação (DAY et al., 1984).

### 3.1.2 Protocolos de IATF em novilhas

A progesterona (P4) tem sido amplamente utilizada há muito tempo para sincronizar a onda folicular (ODDE, 1990) e pode ser administrada de várias formas, como injeções (ULBERG; CHRISTIAN; CASIDA, 1951), implantes intravaginais (MACMILLAN; PETERSON, 1993; PIMENTEL, 2006), implantes auriculares e via oral (GONZALEZ-PADILHA et al., 1975). O implante intravaginal é a fonte mais comum de P4 utilizada em protocolos de IATF (PIMENTEL, 2006). Carvalho et al. (2008) relataram que o uso de estradiol (E2) associado à P4 é uma opção para sincronizar uma nova onda folicular. Burke et al. (1996) observaram que, em vacas ovariectomizadas, o uso exclusivo de P4 foi suficiente para causar um feedback negativo transitório nos níveis de hormônio luteinizante (LH) por 36 horas, sem influenciar a secreção de hormônio folículo-estimulante (FSH). No entanto, quando a P4 foi associada ao benzoato de estradiol (BE), houve um aumento no feedback negativo ao LH por cerca de 5 dias, com diminuição na secreção de FSH. Os autores também observaram que a retirada do implante resultou em um aumento significativo nas concentrações de FSH.

Os dados de Baruselli et al. (2001) confirmam essas informações, uma vez que os autores relataram taxas de ovulação mais baixas em novilhas *Bos indicus* sincronizadas com protocolos convencionais de IATF. Existem basicamente dois tipos de protocolos de sincronização de IATF, aqueles baseados no uso de GnRH e/ou esteroides (BARUSELLI et al., 2001; BÓ; BARUSELLI, 2014).

Os protocolos convencionais que utilizam P4 e E2 para sincronizar a onda folicular envolvem a inserção de um dispositivo de P4 e a administração de 2 mg de benzoato de estradiol (BE) no dia 0 (D0) para induzir a atresia folicular e sincronizar a emergência de uma nova onda folicular. Sete, oito ou nove dias após o início do protocolo, o dispositivo de P4 é removido e uma dose de prostaglandina  $PGF_{2\alpha}$  é aplicada. Vinte e quatro horas após a remoção do dispositivo, é feita a aplicação de BE ou de GnRH 54 horas após a remoção do dispositivo para induzir a ovulação (BÓ et al., 2002; MARTINEZ et al., 2002). Além do uso de BE como indutor de ovulação, também é possível utilizar 0,5 ou 1 mg de cipionato de estradiol no momento da retirada do dispositivo de P4 (COLAZO; KASTELIC; MAPLETOFT, 2003).

Pesquisas recentes têm explorado um novo protocolo em novilhas de corte *Bos taurus*, que envolve o uso de E2 associado a uma maior duração do proestro (DE LA



MATA; BÓ, 2012). Esse protocolo, chamado de J-Synch, consiste basicamente na administração de 2 mg de BE e de um dispositivo intravaginal de P4 por 6 dias. No momento da retirada do dispositivo, é aplicada uma dose de PGF2 $\alpha$  e, 72 horas depois, é feita a aplicação de GnRH e a realização da IATF. A taxa média de prenhez observada com o uso desse protocolo em novilhas Angus foi de 53,7% (DE LA MATA; BÓ, 2012), e em novilhas Holandesas foi de 62,7% (RÉ; DE LA MATA; BÓ, 2014).

A resposta ao uso de P4 e E2 durante o protocolo de sincronização da ovulação para IATF tem sido diferente entre fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus*. Carvalho et al. (2008) observaram que, durante um protocolo de sincronização da ovulação com P4 e E2, novilhas *Bos indicus* (Nelore) apresentaram maiores concentrações de P4 em comparação com novilhas *Bos taurus* (Holandesa), o que resultou em falhas de ovulação nas fêmeas *Bos indicus*. Provavelmente, essa alta concentração de P4 reduziu a frequência de pulsos de LH (SANCHEZ et al., 1995; BERGFELD et al., 1996; BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996; KINDER et al., 1996; FIKE et al., 2004; HATLER et al., 2008) e, assim, limitou o crescimento folicular em novilhas *Bos indicus* (CARVALHO et al., 2008).

Marques et al. (2005), Carvalho et al. (2008) e Dias et al. (2009) relataram que uma alternativa para reduzir a concentração de P4 durante o protocolo de sincronização da ovulação é o uso de progestágenos ou o tratamento com PGF2 $\alpha$  no início do protocolo de IATF, juntamente com os dispositivos de P4. Atualmente, há avanços significativos na compreensão dos padrões de crescimento folicular durante o uso de biotécnicas da reprodução, como a IATF (BÓ; BARUSELLI; MAPLETOFT, 2013). Nesse contexto, o conhecimento da fisiologia da reprodução é essencial para entender os resultados obtidos com o uso das biotécnicas da reprodução, mostrando que estratégias específicas precisam ser empregadas em diferentes grupos genéticos. Independentemente da fase do ciclo estral, a P4 associada ao E2 proporciona uma nova onda folicular por meio da atresia dos folículos, seguida pela emergência de uma nova onda folicular (BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996).

Nas novilhas durante a fase pré-púbere, o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal é totalmente funcional, com a peculiaridade do feedback negativo ao estradiol. Nessa fase, a fêmea é incapaz de produzir quantidades suficientes de LH para ocorrer a ovulação. No entanto, há o desenvolvimento do folículo dominante nos ovários. Com a queda do feedback negativo para o estradiol, ocorre a maturidade

sexual e a liberação suficiente de LH para que ocorra a ovulação (DAY; ANDERSON, 1987).

Silva; Pimentel (2017) relataram que 0,36 g são suficientes para proporcionar uma taxa de prenhez melhor em novilhas pré-púberes submetidas ao protocolo de IATF. Níveis séricos elevados de P4 reduzem a frequência dos pulsos de hormônio luteinizante (LH), prejudicando a qualidade do folículo dominante ao final do protocolo de IATF (BERGFELD et al., 1995; BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996). Devido ao fato de que as novilhas têm menor massa corporal em comparação com as vacas, estão mais sujeitas a uma diminuição na fertilidade nos protocolos de IATF.

O tratamento com prostaglandina no Dia 0 tem o objetivo de induzir a lise do corpo lúteo que a novilha possa ter, reduzindo assim a concentração de progesterona circulante no período de desenvolvimento folicular e na fertilidade das novilhas sincronizadas (CARVALHO et al., 2008). Stock et al. (1993), Rahe et al. (1980) e Roberson et al. (1989) relataram que níveis subluteais de P4 (1,0 a 2,0 ng/mL) estimulam a liberação pulsátil de LH, enquanto altas concentrações de P4 inibem a liberação pulsátil de LH. Da mesma forma, Ireland et al. (1982) relataram uma relação negativa entre os níveis de P4 e a secreção de LH em fêmeas bovinas. A elevada frequência dos pulsos de LH é essencial para a manutenção do folículo dominante (TAFT et al., 1996). Ginther et al. (1996) relataram uma ligação positiva entre a concentração de LH e o tamanho do folículo dominante, onde a diminuição na frequência dos pulsos de LH resulta em redução na concentração média de LH e, conseqüentemente, no diâmetro folicular.

Na literatura científica, ainda existem muitas perguntas sobre protocolos de sincronização, principalmente em novilhas, o que justifica a realização de novos estudos sobre essa importante biotecnologia.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado de acordo com as diretrizes da Comissão de Ética de uso dos Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo – FMVZ -USP (1432231019)

### 4.1 Local do experimento e período de execução

O projeto foi executado no período de novembro de 2020 a janeiro de 2022. O experimento foi realizado no Campus da Universidade de São Paulo na cidade de Pirassununga e nas propriedades comerciais: Fazenda Cachoeirão – Nova Andradina/MS, Fazenda Santo Antonio – Pratinha/MG, Fazenda N&N – Paraguai, Fazenda Bela Vista – Dourados/MS, Retiro Bela Vista – Dourados/MS, Fazenda Sabrina Carla – Dourados/MS, Fazenda Retiro das Pedras – Dourados/MS, Fazenda Taquari – Dourados/MS.

### 4.2 Delineamento experimental

Foram utilizadas 771 novilhas da raça nelore (*Bos Indicus*), com idade de 22 a 50 meses e ECC média de 4 (escala 1-9). O experimento foi realizado em 9 propriedades, num total de 10 lotes: Lote 1 – Universidade de São Paulo Campus Pirassununga (n=45); Lote 2 – Fazenda N&N (n=41); Lote 3 – Fazenda Bela Vista (n=54); Lote 4 – Fazenda Sabrina Carla (n=64); Lote 5 – Fazenda Taquari (n=120); Lote 6 – Fazenda Bela Vista Retiro (n=94); Lote 7 – Fazenda Cachoeirão (n=97); Lote 8 – Fazenda Cachoeirão (n=107); Lote 9 – Fazenda Retiro das Pedras (n=54); Lote 10 – Fazenda Santo Antonio (n=95). Todas as novilhas passaram por avaliação ultrassonográfica de modo B no início do protocolo. Todos os medicamentos injetáveis foram administrados pela via IM.

No Dia 0 (D0) o **lote 1** (n=45) recebeu 5,5 mg de 17- $\beta$ E2 + 50 mg P4 (Betaproginn® – Boehringer Ingelheim) + 530 mcg de Cloprostenol Sódico (Cioprostinn® – Boehringer Ingelheim). Neste mesmo dia (D0), as novilhas foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos que receberam um dispositivo intravaginal (Progestar® – Biogênese Bagó), com 0,96 g de P4 (n=22) (2 peças de silicone

medicadas com P4), ou um dispositivo intravaginal (Progester® - Biogênese Bagó), com 0,48 g de P4 (n=23) (1 peça medicada e outra não medicada). No (D8), os dispositivos foram removidos e as fêmeas receberam 530 mcg de Cloprostenol Sódico (Cioprostinn® – Boehringer Ingelheim) + 200 UI Gonadotrofina Coriônica Equina (Novormon® - Zoetis) + 1 mg Cipionato de Estradiol (E.C.P). No Dia 10 (D10), as novilhas foram inseminadas, em tempo fixo, 48 horas após a retirada dos dispositivos. Neste lote, foram realizadas avaliações ultra-sonográficas nos D8 e D10, para mensurar os folículos dominantes.

No Dia 0 (D0), as novilhas do **lote 2** (n=41) receberam, 5.5 mg de 17-βE2 + 50 mg P4 (Betaproginn® – Boehringer Ingelheim) + 530 mcg de Cloprostenol Sódico (Cioprostinn® – Boehringer- Ingelheim). Neste mesmo dia (D0), foram aleatoriamente distribuídas em dois grupos que receberam um dispositivo intravaginal (Progester® – Biogênese Bagó) com 0,96 g de P4 (n=22) ou um dispositivo intravaginal (Progester® – Biogênese Bagó) com 0,48 g de P4 (n=19). No D8 (D8) os dispositivos foram removidos e as fêmeas receberam 530 mcg de Cloprostenol Sódico (Cioprostinn® – Boehringer Ingelheim) + 200 UI Gonadotrofina Coriônica Equina (Novormon® – Zoetis) + 1 mg Benzoato de Estradiol (BE). No Dia 10 (D10) as novilhas foram inseminadas, em tempo fixo, 36 horas após a retirada dos dispositivos. Neste lote, foram realizadas avaliações ultra-sonográficas nos D8 e D10, para mensurar os folículos dominantes.

No D0 o **lote 3** (n=54); **lote 4** (n=64); **lote 5** (n=120); **lote 6** (n=94) e **lote 9** (n=54) receberam 2 mg de BE (Bioestrogen® – Biogênese Bagó) + 150 µg de D-Cloprostenol (Bioestrogen® – Biogenesis Bagó). Neste momento, as novilhas de cada lote foram divididas em dois grupos e receberam um dispositivo intravaginal (Progester® – Biogênese Bagó) com 0,96 g de P4 ou um dispositivo intravaginal (Progester® – Biogênese Bagó) com 0,48 g de P4. No D8, os dispositivos foram removidos e receberam 150µg de D-Cloprostenol (Bioestrogen® – Biogenesis Bagó) + 200 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (Ecegon® – Biogenesis Bagó) + 1 mg de CE (Croni-Cip® – Biogenesis Bagó). No D10, as novilhas foram inseminadas, 48 após a retirada dos dispositivos.

No D0, o **lote 7** (n=97); **lote 8** (n=107) e **lote 10** (n=95) receberam 2 mg de BE (Bioestrogen® – Biogênese Bagó) + 150 µg de D-Cloprostenol (Bioestrogen® – Biogenesis Bagó). Neste momento, as novilhas foram distribuídas em dois grupos e receberam um dispositivo intravaginal (Progester® – Biogênese Bagó) com 0,96 g de

P4ou um dispositivo intravaginal (Progestar® – Biogênese Bagó) com 0,48 g de P4. No D8.5 os dispositivos foram removidos e foram aplicados 150 µg de D-Cloprostenol (Bioestrogen® – Biogenesis Bagó) + 200 UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (Ecegon® – Biogenesis Bagó) + 1mg de BE (Bioestrogen® – Biogênese Bagó). No D10, as novilhas foram inseminadas, 36 horas após a retirada dos dispositivos. Nos lotes 7 e 8, foram realizadas avaliações ultra-sonográficas nos D8 e D10, para mensurar os folículos dominantes.

No D40, 30 dias após o protocolo de IATF, todas as novilhas foram submetidas ao exame ultra-sonográfico transretal modo B para diagnóstico de gestação.

### **4.3 Análises estatísticas**

Os efeitos do tratamento sobre a taxa de prenhez foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC), com a aproximação de Satterwhaite. O modelo incluiu a taxa de prenhez, o lote de novilhas e a interação entre ambos. As variáveis aleatórias incluíram os efeitos da novilha dentro de cada tratamento, bem como os efeitos do touro e do inseminador, que não foram distribuídos igualmente entre os diferentes lotes. Os efeitos do tratamento sobre o tamanho do folículo dominante na retirada do implante e no momento da inseminação também foram analisados utilizando o GLIMMIX do SAS. O modelo incluiu as variáveis fixas de tratamento e lote, e as variáveis aleatórias de novilha.

Figura 2 – Diagrama esquemático do manejo reprodutivo.

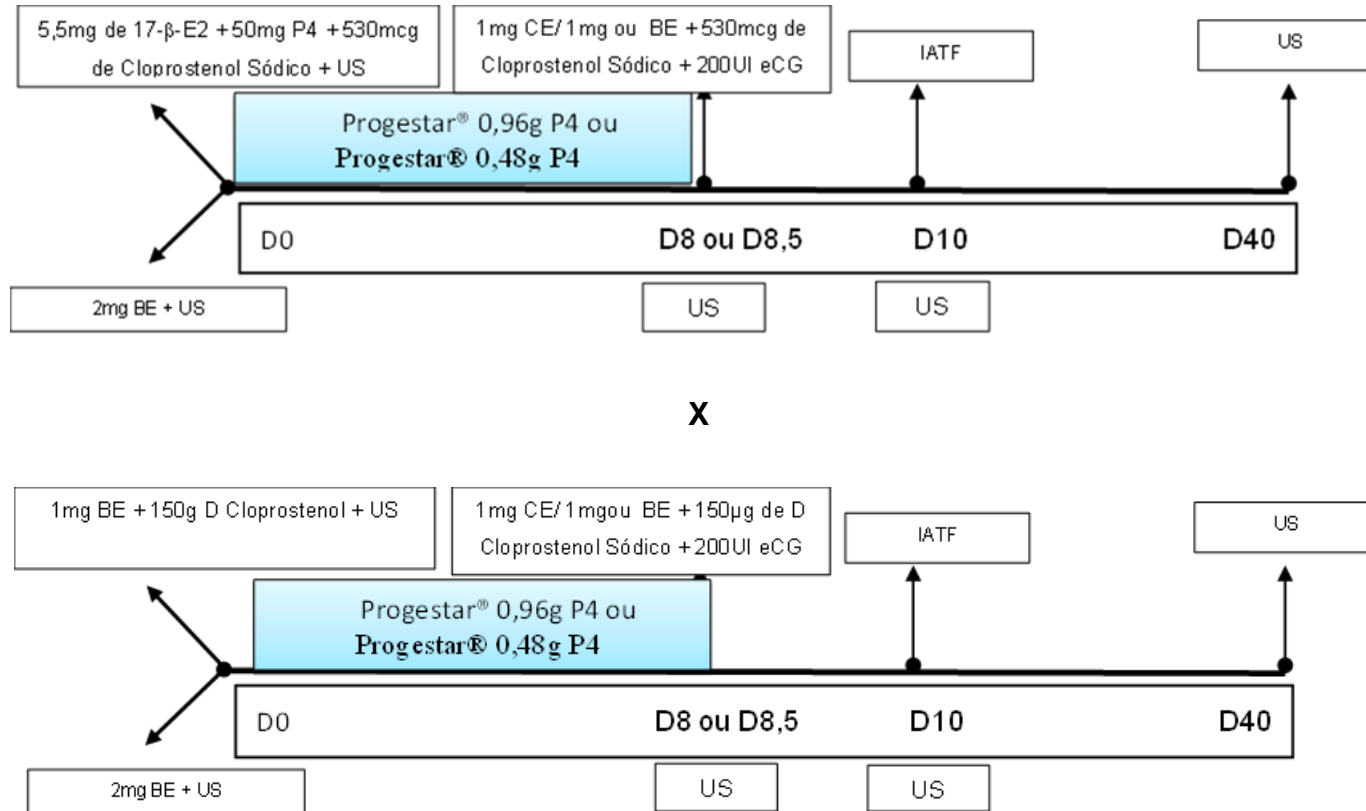


Figura 3 – Dispositivos intravaginais 0.48 gramas de progesterona e 0.96 gramas de progesterona.



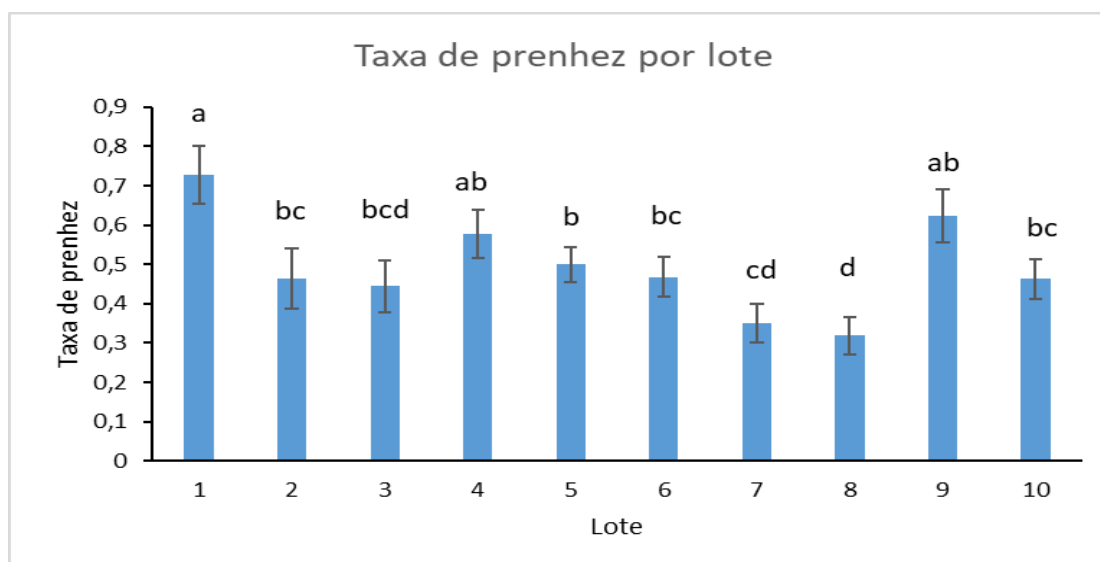
## 5 RESULTADOS

Não houve interação entre tratamento e protocolo para as variáveis: taxa de prenhez ( $p=0.98$ ), diâmetro do folículo dominante na retirada do implante ( $p=0.23$ ) e diâmetro do folículo dominante na IATF ( $p=0.21$ ). Essas interações foram verificadas apenas como um cuidado extra, uma vez que analisar o efeito do protocolo (benzoato de estradiol vs.  $17\beta$ -estradiol) não foi o objetivo do presente estudo. É importante ressaltar que o número de animais que receberam  $17\beta$ -estradiol não está equilibrado em relação aos que receberam benzoato de estradiol (86 vs. 685).

### 5.1 Taxa de prenhez segundo tratamento e lote

Não houve interação significativa entre tratamento e lote ( $p=0.86$ ), portanto, os efeitos de tratamento e lote serão apresentados e discutidos separadamente. O efeito do tratamento não foi estatisticamente significativo ( $p=0.61$ ), no entanto, observou-se um efeito significativo do lote ( $p<0.01$ ). A taxa de prenhez por tratamento foi de 49.03% para o grupo tratado com Progestar® 0.96 g de progesterona e 49.69% para o grupo tratado com Progestar® 0.48 g de progesterona. Os resultados para a taxa de prenhez aos 30 dias nos lotes 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 e 10 foram, respectivamente, 72.73%  $\pm$  0.07, 46.41%  $\pm$  0.07, 44.44%  $\pm$  0.06, 57.81%  $\pm$  0.06, 50%  $\pm$  0.04, 46.81%  $\pm$  0.05, 35.06%  $\pm$  0.04, 31.85%  $\pm$  0.04, 62.18%  $\pm$  0.06, 46.32%  $\pm$  0.05 (Figura 4).

Figura 4 – Taxa de prenhez aos 30 dias segundo lote.

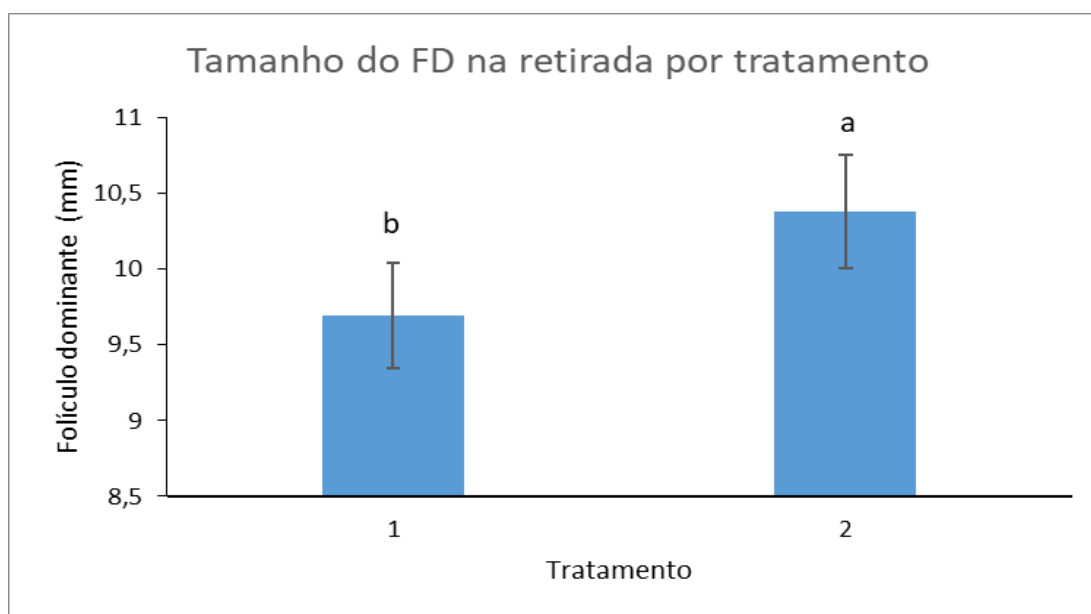




## 5.2 Folículo dominante na retirada

Foi mensurado o diâmetro do folículo dominante na retirada de implante e no momento da IATF nos lotes 1, 2, 7 e 8. A interação entre o nível de progesterona (P4) e o lote não foi significativa ( $p=0.54$ ). No entanto, observou-se um efeito significativo do tratamento ( $p=0.02$ ) e do lote ( $p<0.01$ ). Os diâmetros médios dos folículos no dia 8 e dia 8.5 para cada tratamento foram de 9.69 mm ( $\pm 0.21$ ) para o tratamento 1 (0.96 g de P4) e 0.4 mm ( $\pm 0.21$ ) para o tratamento 2 (0.48 g de P4). As fêmeas que receberam 0.48 g de P4 apresentaram folículos maiores na retirada do implante (Figura 5). As médias de diâmetro de folículos por lote foram as seguintes: Lote 1 (11.34 mm  $\pm$  0.34), lote 2 (10.99 mm  $\pm$  0.37), lote 7 (8.81 mm  $\pm$  0.23) e lote 8 (9 mm  $\pm$  0.23).

Figura 5 – Diâmetro médio do FD na retirada de implante segundo tratamento.



## 5.3 Folículo dominante na IATF

Não houve efeito de interação entre o tratamento e o lote ( $p=0.55$ ), nem efeito significativo do tratamento ( $p=0.65$ ). No entanto, foi observado um efeito significativo de acordo com o lote ( $p<0.01$ ). Os diâmetros médios dos folículos para cada tratamento foram de 9.94 mm  $\pm$  0.31 e 10.14 mm  $\pm$  0.32, respectivamente, para os tratamentos 1 e 2. Os tamanhos médios dos folículos dominantes no momento da IATF foram os seguintes: lote 1 (12.06 mm  $\pm$  0.51), lote 2 (11.35 mm  $\pm$  0.37), lote 7 (7.61 mm  $\pm$  0.34) e lote 8 (9.13 mm  $\pm$  0.33).

Tabela 1 – Diâmetro médio FD na retirada e IATF por tratamento.

<b>Tratamento</b>	<b>n</b>	<b>FD retirada (mm)</b>	<b>FD IATF (mm)</b>
Progestar® 0,96g P4	144	9.69±0.21	9.94±0.31
<hr/>			
Progestar® 0,48g P4	142	10.38±0.21	10.14±0.32
		p=0.024	p=0.65

## 6 DISCUSSÃO

Três fatores são importantes para o sucesso da IATF, proporcionar uma nova onda de crescimento folicular, controlar o desenvolvimento do crescimento folicular e promover a ovulação do folículo dominante (BÓ et al., 1995; MADUREIRA et al., 2020).

A primeira substância utilizada para o controle do ciclo estral em ruminantes foi a progesterona (P4) (CHRISTIAN; CASIDA, 1948). Inicialmente, os tratamentos eram realizados por meio da administração diária de doses de P4, que resultavam em altas taxas de sincronização de estro, porém baixas taxas de concepção (MACMILLAN; PETERSON, 1993).

Vários estudos mostraram que a combinação de P4 com PGF2 $\alpha$  melhorava a sincronização do estro, por induzir a regressão do corpo lúteo, especialmente quando administrada de 24 a 48 horas antes da retirada da P4 (SMITH et al., 1984; ODDE, 1990; MACMILLAN; PETERSON, 1993; MADUREIRA et al., 1997).

No presente estudo, não foram observadas diferenças na taxa de prenhez entre os tratamentos. Barufi (2002) relatou taxas de prenhez de 28,8% para o CIDR® no primeiro uso e de 38,7% para o dispositivo no segundo uso. Na literatura, há relatos de que níveis subluteínicos de P4 (1,0 a 2,0 ng/mL) estimulam a liberação pulsátil de LH, enquanto altas concentrações de P4 inibem os pulsos de LH (STOCK et al., 1993; ROBERSON et al., 1989).

Manter as concentrações de P4 entre 1,0 e 2,0 ng/mL resulta em um aumento na frequência dos pulsos de LH (um ou mais a cada 2 horas), o que mantém o crescimento do folículo dominante e aumenta as concentrações de estradiol (E2) (STOCK et al., 1993; AHMAD et al., 1995).

Para que ocorra a expressão do estro e uma fase luteínica normal, é necessário haver exposição a níveis adequados de P4 (YAVAS; JOHNSON; WALTON, 1999; LUCY et al., 2001).

Roberson et al. (1989) relataram que vacas que receberam dispositivos intra-vaginais que proporcionaram altas concentrações plasmáticas de P4 apresentaram menores concentrações de E2 após a retirada dos dispositivos, em comparação com vacas que receberam dispositivos intra-vaginais que proporcionaram níveis subluteínicos de P4.

Segundo Gibbons, Wiltbank e Ginther (1999), o estrogênio desempenha um papel importante na supressão do FSH. Quando os níveis de P4 são elevados, o estrogênio bloqueia, de maneira dose-dependente, a liberação de LH e pode afetar a emergência da subsequente onda folicular (BÓ et al., 1994).

Durante o proestro, ocorre a maturação do folículo dominante, e isso ocorre com concentrações plasmáticas de P4 inferiores a 1 ng/mL (STOCK et al., 1993). Da mesma forma, estudos relatam que altas concentrações de P4 inibem a pulsatilidade do LH e limitam o crescimento folicular (TAYLOR; RAJAMAHENDRAN, 1994).

No ciclo estral das fêmeas bovinas, que pode variar de 17 a 25 dias, existem quatro fases: estro (0 a 1 dia), quando os níveis de E2 estão elevados e há sinais de estro; metaestro (1 a 6 dias), quando ocorre a ovulação e a formação do corpo lúteo; diestro (7 a 16 dias), caracterizado pela secreção de P4; e proestro (17 a 21 dias), quando ocorre a luteólise e a maturação do folículo ovulatório. A fase folicular ou estrogênica ocorre durante o proestro, estro e metaestro, enquanto a fase luteínica ocorre durante o diestro (HAFEZ, 2004).

Foram observadas diferenças na taxa de prenhez entre os lotes. Esses achados podem estar relacionados a diferentes estratégias nutricionais entre os lotes, escore de condição corporal, idade, melhoramento genético, sanidade e à falta de indução da puberdade. Demonstrado no estudo de Claro Júnior et al. (2010), que constataram que novilhas expostas à P4 para indução da puberdade apresentaram maiores taxas de detecção de estro, diâmetro folicular, escore uterino e concepção em comparação com animais não tratados.

O experimento apresentou melhores taxas de prenhez nos protocolos com 17 $\beta$ -E2 em comparação com o BE, mas esses dados não foram incluídos nas análises estatísticas devido à falta de balanceamento dos lotes. Bovinos que receberam dispositivos de progestágenos e administração de 5 mg de 17 $\beta$ -estradiol (17 $\beta$ -E2) apresentaram emergência de uma nova onda folicular em média 4,3  $\pm$  0,2 dias após o tratamento (BÓ et al., 1995).

Protocolos de sincronização baseados em E2 e P4 são capazes de promover uma nova onda folicular (MENEHETTI et al., 2009), porém o 17 $\beta$ -E2 apresenta menor variabilidade no surgimento dessa nova onda folicular (MARTINEZ et al., 2005).

Em taurinos, a capacidade ovulatória dos folículos é atingida com um diâmetro de 10 mm (SARTORI et al., 2001), enquanto em zebuínos essa capacidade é alcançada com 7 mm (GIMENES et al., 2005). É provável que o menor crescimento

folicular observado nas novilhas zebuínas seja resultado da alta concentração de P4 circulante durante o protocolo de IATF, em comparação com as fêmeas zebuínas, uma vez que maiores concentrações de P4 podem suprimir os pulsos de LH (SANCHEZ et al., 1995; BERGFELD et al., 1996; BURKE; MACMILLAN; BOLAND, 1996; KINDER et al., 1996; FIKE et al., 2004; HATLER et al., 2008), o que, por sua vez, inibe o crescimento folicular (STOCK et al., 1993; CARVALHO et al., 2008; SALES et al., 2014).

Não houve diferença no diâmetro folicular entre os tratamentos, no entanto, foram observadas diferenças entre os lotes. Essa diferença provavelmente se deve à condição nutricional das novilhas, uma vez que um lote foi observado na Universidade de São Paulo, onde as novilhas recebem suplementação após a desmama, enquanto o outro lote foi em uma fazenda comercial.

Estudos sobre as particularidades entre taurinos e zebuínos (CARVALHO et al., 2008; GIMENES et al., 2009; GIMENES, 2010; SILVA-SANTOS et al., 2011; SOARES et al., 2011; SATRAPA et al., 2013) e as diferentes estratégias nutricionais de ingestão de matéria seca (MOLLO et al., 2007; MARTINS et al., 2008; BASTOS et al., 2010; SALES, 2011; PRATA, 2013; SURJUS, 2013) têm sido utilizados para o desenvolvimento de protocolos específicos visando maximizar o desempenho reprodutivo e genético.

Tanto a falta quanto o excesso de energia podem impactar diretamente o desempenho reprodutivo das fêmeas (SANTOS et al., 1998; WILTBANK et al., 2006; SANTOS; CERRI; SARTORI, 2008). A reprodução pode ser afetada no crescimento folicular, na concentração de hormônios esteroides (MARTINS et al., 2008; BASTOS et al., 2010; SALES, 2011; SURJUS, 2013) e na idade da puberdade. O excesso ou a carência de vitaminas e minerais também interferem na reprodução e estão relacionados ao baixo desempenho reprodutivo nas fêmeas bovinas (SANTOS et al., 1998). Esses estudos comprovam que o manejo nutricional adequado pode contribuir positivamente para o desempenho reprodutivo.

## 7 CONCLUSÃO

Os resultados para taxa de prenhez por lote e tratamento utilizando o Progestar® contendo 0,96 g de P4 foram: lote 1: 72,7%; lote 2: 45,4%; lote 3: 51,8%; lote 4: 56,2%; lote 5: 54%; lote 6: 40,4%; lote 7: 37%; lote 8: 66,7%; lote 9: 45,8%. Os resultados para taxa de prenhez por lote e tratamento utilizando o Progestar® contendo 0,48 g de P4 foram os seguintes: lote 1: 73,9%; lote 2: 47,4%; lote 3: 37,1%; lote 4: 59,4%; lote 5: 45,8%; lote 6: 53,1%; lote 7: 29,1%; lote 8: 57,7%; lote 9: 46,8%. Observou-se que o dispositivo intra-vaginal com 0,48 g de P4 foi suficiente para manter as taxas de prenhez no protocolo de IATF, em comparação ao tratamento com o implante que contém 0,96 g de P4.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, N. et al. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. **Biology of Reproduction**, v. 52, p. 1129 – 1135, 1995.
- ANUALPEC. **Anualpec 2005**: Anuário da Pecuária Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2005. 340 p.
- ANUALPEC. **Anualpec 2019**: Anuário da Pecuária Brasileira. 22 ed. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2019. 385 p.
- BASTOS, M. R. et al. Ovarian function and circulating hormones in nonlactating Nelore versus Holstein cows. **Acta scientiae veterinariae**, v. 38, n.11, p. 776, 2010.
- BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H.; MARQUES, M.O. Programas de IA a tiempo fijo em *BOS INDICUS*. Segunda parte. **Taurus**, v. 13, p. 9-21, 2001.
- BARUFI, F. B. **Sincronização do ciclo estral e da ovulação em bovinos de corte usando tratamentos com Crestar, CIDR ou CIDR reutilizado, seguidos ou não pela administração de eCG**. 2002. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- BERGFELD, E. G. et al. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17 $\beta$ -estradiol in cows is related to concentration of progesterone comes from either an endogenous source. **Animal Reproduction Science**, v. 37, p. 257, 1995.
- BERGFELD, E. G. et al. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females. **Biology of reproduction**, v. 54, n. 3, p. 546-553, 1996.
- BÓ, G. A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol-17 $\beta$  treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v. 41, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G. A. et al. Local versus systemic effects of exogenous estradiol on ovarian follicular dynamics in heifers with progestogen ear implant. **Animal of Reproduction Science**, v. 59, p. 141– 157, 2000.
- BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S. Synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Animal**, v. 8, n. s1, p. 144-150, 2014.
- BO, G. A; ADAMS, G. P; PIERSON, R. A; MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, 43, 31-40, 1995.
- BÓ, G. A. et al. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, n. 1, p. 53-72, 2002.
- BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L.; BOLAND, M. P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal reproduction science**, v. 45, n. 1-2, p. 13-28, 1996.

BURKE, C. R.; MUSSARD, M. L. BOLAND, M. P. Oestradiol potencies a prolonged-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal of Reproduction Science**, v. 45, p. 13-28, 1996.

CARDOSO, D.; NOGUEIRA, G. P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, v. 10, p. 59–67, 2007.

CARVALHO, J. B. P. de et al. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, n. 2, p. 167-175, 2008.

CLARO JÚNIOR., I. et al. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v. 74, n. 6, p. 903–911, oct. 2010.

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

COLAZO, M. G. et al. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, v. 81, n. 1-2, p. 25-34, mar. 2004

DAY, M. L. et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing secretion. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 37, p. 1054-1065, 1987.

DAY, M. L.; ANDERSON, L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 1–15, 1998.

DE LA MATA, J. J.; BÓ, G. A. Sincronización de celos y ovulación utilizando protocolos de benzoato de estradiol y GnRH en períodos reducidos de inserción de un dispositivo con progesterona en vaquillonas para carne. **Taurus**, v. 55, p. 17-23, 2012.

DIAS, C. C. et al. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**, v.72, p.378–385, 2009.

ENDECOTT, R. L. et al. Implications of beef heifer development systems and lifetime productivity. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 1329–1335, 2013.

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

FERREIRA, A. M. **Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia aplicada e problemas mais comuns (causas e tratamento)**. 1 ed. Juiz de Fora, MG: Editar, 2010. 420 p.

FERREIRA, J. L. et al. Modelos de regressão aleatória para característica de crescimento em bovinos da raça Guzerá. **Ciência Animal Brasileira**, v. 18, 2017.



FIKE, K. E. et al. Regulation of frequency of luteinizing hormone pulses by magnitude of acute change in circulating concentration of progesterone of female cattle. **Animal reproduction science**, v. 84, n. 3-4, p. 279-291, 2004.

FURTADO, D. A. et al. artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, v. 16 n. 11, p. 1-25, Garça - São Paulo, jan. 2011.

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

GIMENES, L. U. et al. Capacidade ovulatória em novilhas *Bos indicus*. **Acta Scientiae Veterinary**, v. 33, p. 209, 2005.

GIMENES, L. U. **Taxa de recuperação *in vivo* e competência *in vitro* de oócitos bubalinos, zebuínos e taurinos aspirados em diferentes fases da onda de crescimento folicular**. 2010. 122 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2010.

GINTHER, O. J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187 - 1194, 1996.

GONZALEZ-PADILLA, E. et al. Puberty in beef heifers. III. Induction of fertile estrus. **Journal of Animal Science**, v. 40, n. 6, p. 1110–1118, jun. 1975.

HAFEZ, E. S. E.; HAZEZ, B. **Reprodução animal**, 7 ed., Barueri: Manole, 2004. 513 p.

HANSEL, W.; CONVEY, E. M. Physiology of the estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v. 57, n. suppl\_2, p. 404-424, 1983.

HATLER, T. B. et al. Effect of subluteal concentrations of progesterone on luteinizing hormone and ovulation in lactating dairy cows. **The veterinary journal**, v. 177, n. 3, p. 360-368, 2008.

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

INFORZATTO, G. R. et al. Emprego de IATF (Inseminação Artificial em Tempo Fixo) como alternativa na reprodução da pecuária de corte. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**, v. 11, p. 1-8, 2008.

KINDER, J. E. et al. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. **Journal of animal science**, v. 74, n. 6, p. 1424-1440, 1996.

LUCY, M. C. et al. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1277-1293, 2001.

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

MADUREIRA, E. H. et al. Sincronização do estro em fêmeas bovinas usando acetato de melengestrol (MGA) associado à prostaglandina F<sub>2α</sub> IND. 2''ALFA'e ao 17'BETA'-estradiol. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 21, n. 2, p. 94-97, 1997.

MADUREIRA, G. et al. Progesterone-based timed AI protocols for *Bos indicus* cattle II: reproductive outcomes of either EB or GnRH-type protocol, using or not GnRH at AI. **Theriogenology**, v. 145, 86-93, 2020.

MARQUES, M. O. et al. Efeito do tratamento com PGF<sub>2α</sub> na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 287, 2005.

MARTINEZ, M. F. et al. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 80, p.1746-1751, 2002.

MARTÍNEZ, M. F. et al. Efeitos do estradiol e alguns de seus ésteres na liberação de gonadotrofinas e na dinâmica folicular ovariana em bovinos de corte tratados com CIDR. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37-52, 2005.

MARTINS, A. C. et al. Concentrações séricas hormonais em vacas azebuadas submetidas à baixa e a alta ingestão alimentar. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 43, p. 243-247, 2008.

MENEGHETTI M. et al. Inseminação artificial em tempo fixo com estradiol e progesterona para vacas *Bos indicus* I: base para desenvolvimento de protocolos. **Theriogenology**, v. 72, p. 179-189, 2009.

MOLLO, M. R. et al. Ovarian function in Nelore heifers under low or high feed intake. **Acta scientiae veterinariae**, v. 35, p. 958, 2007.

MORAES, J. C. F.; JAUME, C. M.; SOUZA, C. J. H. Manejo reprodutivo da vaca de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 31, p. 160–166, 2007.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in south american *Bos Indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82 -83, p. 361-372, jul. 2004.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 3, p. 817–830, mar. 1990.

PALHANO, H.B. **Reprodução em bovinos fisiopatologia terapêutica, manejo e biotecnologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Editora LF Livros, 2008, p.181-224.

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

PRATA, A. B. **Influência da alta ou baixa ingestão de matéria seca e/ou energia na produção in vitro de embriões bovinos.** 2013. 63 f. Dissertação (Mestre em Ciências), Faculdade Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade Estadual de São Paulo, Piraciaba, 2013.

RAHE, C. H. et al. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. **Endocrinology**, v. 107, p. 498 – 503, 1980.

RÉ, M.; DE LA MATA, J. J.; BÓ, G. A. 8 SYNCHRONIZATION OF OVULATION IN DAIRY HEIFERS USING A SHORTENED ESTRADIOL-BASED PROTOCOL THAT PROVIDES FOR A LENGTHENED PROESTRUS. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 26, n. 1, p. 118-118, 2014.

ROBERSON, M. S. et al. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biology of Reproduction**, v. 41, p. 997 – 1003, 1989.

ROSSA, L. A. F. et al. Efeito do eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 199-206, 2009.

SALES, J. N. S. et al. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v.83, p.1093 – 1100, 2014.

SALES, J. N. S. **Efeito da dieta com alta energia nos parâmetros metabólicos, endócrinos e reprodutivos de vacas *Bos indicus* e *Bos taurus*.** 2001. 161 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2011.

SANCHEZ, T. et al. Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 beta-estradiol in heifers. **Biology of reproduction**, v. 52, n. 2, p. 464-469, 1995.

SANTOS, J. E. P.; AMSTALDEN, M. Effects of nutrition on bovine reproduction. **Arquivo faculdade veterinária UFRGS**, v. 26, n. 1, p. 19-79, 1998.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L. A.; SARTORI, R. Nutritional management of the donor cow. **Theriogenology**, v. 69, n. 1, p. 88-97, 2008.

SATRAPA, R. A. et al. Differential expression of members of the IGF system in OPU-derived oocytes from Nelore (*Bos indicus*) and Holstein (*Bos taurus*) cows. **Animal reproduction science**, v. 138, n. 3-4, p. 155-158, 2013.

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

SCHILLO, K. K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of animal science**, v. 70, n. 4, p. 1271-1282, 1992.

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

SILVA, M. A. M.; PIMENTEL, L. A. Mejoramiento genético en bovinos a través de la inseminación artificial y la inseminación artificial a tiempo fijo. **RIAA**, v. 8, n. 2, p. 247-259, 2017.

SILVA-SANTOS, K. C. et al. Estimate of the population of preantral follicles in the ovaries of *Bos taurus indicus* and *Bos taurus taurus* cattle. **Theriogenology**, v. 76, n. 6, p. 1051-1057, 2011.

SMITH, R. D. et al. Insemination of Hostein heifers at a preset time after estrus cycle synchronization using progesterone and prostaglandin. **Journal of Animal Science**, v. 58, p. 792, 1984.

SOARES, J. G. et al. Timing of insemination using sex-sorted sperm in embryo production with *Bos indicus* and *Bos taurus* superovulated donors. **Animal reproduction science**, v. 127, n. 3-4, p. 148-153, 2011.

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

SURJUS, R. S. **Produção de embriões e fisiologia ovariana em vacas Nelore sob diferentes níveis nutricionais**. 2013. 81 f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Escola Superior de Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

TAFT, R., AHMAD, N., INSKEEP, E. K. Exogenous pulses of luteinizing hormone cause persistence of the largest bovine ovarian follicle. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 2985 – 2991, 1996.

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

TERASAWA, E.; FERANDEZ, D. L. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. **Endocrine Reviews**, v. 22, n.1, p. 111 – 151, feb. 2007.

TOUATI, K. et al. Mise au point sur la folliculogénèse. **Annales de Médecine Veterinaire**, v. 133, p. 583-588, 1989.

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

ULBERG, L. C.; CHRISTIAN, R. E.; CASIDA, L. E. Ovarian response in heifers to progesterone injections. **Journal of Animal Science**, v. 10, n. 3, p. 752–759, Aug. 1951.

VALLE, E. R. **O ciclo estral de bovinos e métodos de controle**. n. 48 Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1991. 24 p.

VIANA, J. A. C. **O terceiro mundo não é assim: Está assim!** Belo Horizonte: FEP-MVZ/UFMG – Escola Veterinária, 1999. 689 p.

WILTBANK, J. N.; KASSON, C. W.; INGALLS, J. E. Puberty in crossbred and straightbred beef heifers on two levels of feed. **Journal of Animal Science**, v. 29, p. 602–605, 1969.

WILTBANK, M. et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v. 65, n. 1, p. 17-29, 2006.

YAVAS, Y.; JOHNSON, W. H.; WALTON, J. S. Modification of follicular dynamics by exogenous FSH and Progesterone, and the induction of ovulation using hCG in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 52, p. 949-963, 1999.