

GUILHERME ANICETO VERAS

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROGESTERONA SOBRE A
DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS HOLANDESAS (*Bos taurus*)
SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO**

GARANHUNS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES

GUILHERME ANICETO VERAS

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROGESTERONA SOBRE A
DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS HOLANDESAS (*Bos taurus*)
SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes.

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu
Coorientador: Dr. Sebastião Inocêncio Guido

GARANHUNS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO DE
RUMINANTES

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROGESTERONA SOBRE A
DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS HOLANDESAS (*Bos taurus*)
SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO

Dissertação elaborada por

GUILHERME ANICETO VERAS

Aprovada em/...../.....

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu
Presidente da Banca – Departamento de Reprodução Animal/UFRPE

Prof. Dr. Paulo Fernandes de Lima
Departamento de Reprodução Animal/UFRPE

Dr. Sebastião Inocêncio Guido
Instituto Agrônômico de Pernambuco/IPA

Prof. Dr. José Augusto Carvalho
Universidade Estadual de Santa Cruz/UESC

À Minha Família, em especial aos meus Pais, Francisco e Josefa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por está presente em mais uma etapa de nossas vidas, dando-nos força e coragem para continuarmos caminhando pelos nossos ideais.

Aos meus pais, Francisco Batista Veras e Josefa Aniceto Veras, pelo constante apoio, amor, confiança, lições de vida e formação moral, além de meus irmãos Gustavo e Priscila, pois sei que confiam no meu trabalho.

A minha esposa Ana Marcela e aos meus filhos Mariana e Vinícius pela compreensão, paciência, carinho e apoio durante todo período.

Ao amigo e orientador de ESO, iniciação científica, projetos de extensão e Mestrado, Prof. Dr. Cláudio Coutinho Bartolomeu, pelos conhecimentos compartilhados, dedicação, confiança durante todo esse tempo, um grande exemplo de pessoa e profissional a se espelhar.

A toda equipe que forma o Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), Estação Experimental de São Bento do Una – PE, pela disponibilidade dos animais, laboratório de biotecnologias da reprodução, equipamentos, hormônios e pessoal (vaqueiros), imprescindível para o andamento do experimento.

Ao amigo, coorientador e pesquisador do IPA, Dr. Sebastião Inocêncio Guido, pela amizade, informações repassadas, dedicação e acolhimento na Estação Experimental de São Bento do Una.

As pessoas que contribuíram diretamente com o experimento, ao companheiro de graduação e mestrado Paulo Francisco Póvoas, ao Médico Veterinário Eugênio Moreira pelos bons momentos e auxílio imprescindível durante o experimento e a Estefânia, doutoranda na UFRPE, pelas dosagens hormonais.

A todos os professores e pós-graduandos que fazem o Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Reprodução de Ruminantes da UFRPE-UAG/Clínica de Bovinos de Garanhuns.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Você nunca sabe que resultados virão da sua ação. Mas se você não fizer nada, não existirão resultados”.

Mahatma Gandhi

RESUMO

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROGESTERONA SOBRE A
DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS HOLANDESAS (*Bos taurus*)
SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de progesterona (P_4) sobre a dinâmica folicular em novilhas Holandesas (*Bos taurus*) submetidas à sincronização de estro e ovulação. O experimento foi realizado na Estação Experimental de São Bento do Una/PE do Instituto Agrônomo de Pernambuco/IPA, entre setembro e dezembro de 2012. Foram utilizadas 19 novilhas púberes Holandesas, com ECC entre 3,0 e 3,5 e mantidas em sistema intensivo. Foram distribuídas em dois grupos, onde no D0, receberam implantes intravaginal contendo 0,75g de P_4 no G1 (n=10) e 1g de P_4 no G2 (n=9), associado a 2 mg de BE i.m. No D7, foram aplicados 530 μ g de cloprostenol sódico e 300 UI de eCG i.m. e no D8 os implantes intravaginais foram removidos. No D9, foi aplicado 1mg de BE i.m. em ambos os grupos e no D10 a IATF. A atividade ovariana foi acompanhada no D0, D4, D8, D10 e após a IA de 6/6 horas até a ovulação. O diagnóstico de gestação, realizado 30 dias após a IATF. Os dados foram analisados pelo SPSS 16.0, empregando-se a análise de variância (ANOVA). Sendo evidenciada diferença estatística, aplicou-se o teste de Turkey. As variáveis binominais foram analisadas pelo Qui-quadrado. Não foi observado efeito significativo entre a sincronização da onda (100 vs. 100%), taxa de ovulação (70 vs. 89%), momento da ovulação (60,5 \pm 2,65 vs. 64,5 \pm 0,33 h) e taxa de concepção (40 vs. 44,4%) entre G1 e G2, respectivamente. O diâmetro do folículo dominante no D9 (\emptyset FD) (13,5 \pm 0,1 vs. 10,8 \pm 1,7 mm) não diferiu entre os grupos, assim como o \emptyset máx. FD (14,3 \pm 1,5 vs. 11,9 \pm 0,86 mm) e do \emptyset máx. FO (14,7 \pm 0,74 vs. 12,3 \pm 1,37 mm), porém a taxa de crescimento diário dos folículos foi significativamente maior no G1 que no G2 (1,6 \pm 0,12 vs. 1,0 \pm 0,18 mm/dia). O diâmetro médio do folículo dominante no D9 entre as novilhas que ovularam do grupo G1 foi 14,8 \pm 0,6 mm e no G2 11,2 \pm 1,6 mm não se observando diferença estatística entre os tratamentos (P=0,07), da mesma forma que também não se observou diferença estatística entre novilhas que não ovularam do G1 (9,6 \pm 0,7) e do G2 (7,7 \pm 0,03)(P=0,42). Já ao se comparar os diâmetros médios dos folículos dominantes no D9 entre as novilhas que ovularam (14,8 \pm 0,6 mm) e as que não ovularam (9,6 \pm 0,7 mm) do G1, observou-se diferença significativa (P<0,05), assim como no G2 (11,2 \pm 1,6 vs. 7,7 \pm 0,03 mm). A taxa de ovulação aumentou significativamente nos folículos maiores de 11 mm, mensurados no D9, no entanto, as taxas de concepção foram maiores quando os folículos se encontravam maiores que 8 mm, no D9. No presente estudo não foi observado efeito significativo da concentração de P_4 no \emptyset FD, \emptyset FO, momento da ovulação, taxas de ovulação e concepção em novilhas púberes Holandesas, porém os animais que receberam dispositivo com menor concentração de P_4 no D0 apresentaram maior taxa de crescimento folicular diário.

Palavras-chave: Progesterona, Dinâmica Folicular, Novilhas Holandesas e IATF.

ABSTRACT

**EFFECT OF DIFFERENT PROGESTERONE DEVICES OVER FOLLICULAR
THE DYNAMICS IN HOLSTEIN HEIFERS (*Bos taurus*) SUBMITTED TO
SYNCHRONIZATION OF ESTRUS AND OVULATION**

The aim of this study was to evaluate the effect of different progesterone concentrations (P4) on follicular dynamics in Holstein heifers (*Bos taurus*) subjected to synchronization of estrus and ovulation. The experiment was conducted at the Experimental Station of São Bento do Una/PE Agronomic Institute of Pernambuco / IPA, between September and December 2012. There were used 19 pubertal Holstein heifers presenting BSC between 3.0 and 3.5 and kept in intensive system. The heifers were divided into two groups, receiving an intravaginal devices at D0 containing 0.75 g of P4 in G1 (n = 10) and 1 g of P4, in G2 (n = 9) along with 2 mg BE im. At D7, there were applied 530µg of cloprostenol and 300 IU of eCG im, at D8 intravaginal devices were removed. At D9, heifers in both groups received 1mg of EB im and at D10 TAI were preceded. The ovarian activity was monitored at D0, D4, D8, D10 and at each 6 hours after TAI until ovulation. Pregnancy diagnosis were performed 30 days after TAI. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and means were compared by the test of Turkey at 5% by the statistical program SPSS 16 for Windows. Binomial variables were analyzed by chi-square. No significant effect was observed between wave synchronization (100 vs. 100%), ovulation rate (70 vs. 89%), time of ovulation (60.5 ± 2.65 vs. 64.5 ± 0.33 h) and conception rate (40 vs. 44.4%) between G1 and G2, respectively. The dominant follicle average diameter at D9 between heifers that ovulated from G1 was 14.8 ± 0.6 mm and in G2 11.2 ± 1.6 mm presenting no statistical difference (P=0.07) the same way was not also observed statistical difference between heifers that did not ovulate from G1 (9.6 ± 0.7 mm) and in G2 (7.7 ± 0.03) (P=0.42).) Already when comparing the average diameters of dominant follicles in D9 between the heifers that ovulated (14.8 ± 0.6 mm) and those that did not ovulate (9.6 ± 0.7 mm) from G1, it was observed significant difference (P < 0.05), as well as from G2 (11.2 ± 1.6 vs. 7.7 ± 0.03 mm). The ovulation rate increased significantly in the follicles larger than 11 mm, measured on D9 However, conception rates were higher when the follicles were larger than 8 mm on D9. In the present study, no significant effect was observed in DFØ, OFØ, time of ovulation, ovulation and conception rates in pubertal Holstein heifers, but animals receiving device with lower concentrations of P4 in D0 showed higher daily rate growth follicular.

Keywords: Progesterone, Follicular Dynamics, Holstein Heifers and TAI.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Protocolo hormonal composto por P ₄ , BE, eCG e PGF ₂ α, utilizado em novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.....	39
Figura 2. Representação esquemática dos exames ultrassonográficos de novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.....	40
Figura 3 - Taxas de ovulação e concepção de acordo com o diâmetro do folículo dominante no D9 em novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.....	44
Figura 4 - Grupo de novilhas Holandesas púberes que participaram do estudo, Estação Experimental do IPA, São Bento do Una – PE.....	53

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75 g ou 1 g) sobre a sincronização da onda, taxa de ovulação, momento da ovulação e taxa de concepção de novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013..... **41**
- Tabela 2.** Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre a dinâmica folicular (Média ± Desvio Padrão) de novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013..... **42**
- Tabela 3.** Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre o diâmetro do folículo dominante (D9) nas novilhas Holandesas púberes que ovularam e que não ovularam (Média ± EPM) submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013..... **42**
- Tabela 4.** Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre o diâmetro do folículo dominante (D9) nas novilhas Holandesas púberes que conceberam e que não conceberam (Média ± EPM) submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013..... **43**

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BE - Benzoato de estradiol
CIDR - Dispositivo intravaginal de progesterona
CL - Corpo Lúteo
ECC - Escore de Condição Corporal
eCG - Gonadotrofina Coriônica Equina
hCG - Gonadotrofina Coriônica Humana
E₂ - Estradiol
FD - Folículo Dominante
FO – Folículo Ovulatório
FSH - Hormônio Folículo Estimulante
GnRH - Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA - Inseminação Artificial
IATF - Inseminação Artificial em Tempo Fixo
LH - Hormônio Luteinizante
P₄ - Progesterona
PGF_{2α} - Prostaglandina F2alfa
RNAm - Ácido Ribonucleico Mensageiro
IGF – Fator de Crescimento Semelhante à Insulina
Ø - Diâmetro
mm - Milímetro
mL - Mililitro
ng - Nanograma
μ - Micro
vs. – Verso
US – Exame ultrassonográfico

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	13
2.	OBJETIVOS.....	15
2.1	Geral.....	15
2.2	Específicos.....	15
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1	Dinâmica Folicular.....	16
3.2	Sincronização de estro, controle da emergência folicular e da ovulação.....	18
3.3	Efeito da concentração de progesterona na fertilidade em protocolos de IATF.....	24
4.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
5.	ARTIGO CIENTÍFICO - Efeito de diferentes dispositivos de progesterona sobre a dinâmica folicular em novilhas Holandesas (<i>Bos taurus</i>) submetidas à sincronização de estro e ovulação.....	36
6.	APÊNDICE.....	52
7.	ANEXO.....	53

1. INTRODUÇÃO

Por apresentar dimensões continentais e condições edafo-climáticas favoráveis, o Brasil se destaca mundialmente na criação bovina (MUSTEFAGA & NOGUEIRA, 2004), possuindo um rebanho de aproximadamente 172 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2010) e a maior área, aproximadamente 20% da área agricultável do planeta, destacando-se não apenas pelo número de cabeças, mas também, pelo potencial de crescimento, sendo que no ano de 2008 apresentou crescimento de aproximadamente 1,4% em relação a 2007 (CLARO JUNIOR, 2009). Costa (2006) apontou que o sucesso da pecuária nacional só foi obtido após investimentos em áreas primordiais, as quais podem ser resumidas no trinômio: nutrição, genética e sanidade.

O baixo custo de produção, seja de leite ou carne, é o que torna o Brasil forte e competitivo no mercado, quando comparado a países onde a base da alimentação animal é fundamentalmente em grãos (CLARO JUNIOR, 2009). Porém, os produtores devem ter consciência de que para se manter na atividade pecuária, seja ela de corte ou leite, obtendo retorno econômico satisfatório cada vez mais terão que melhorar a eficiência produtiva e reprodutiva (ANUALPEC, 2008).

Dados do IBGE (2010) mostram que a produção de leite nacional apresenta constante crescimento, onde em 2009 a produção aumentou 5,6% quando comparado a 2008. Com um rebanho leiteiro de 22.435.289 animais, o Brasil produziu em 2009, 29,1 bilhões de litros de leite, obtendo um crescimento acumulado entre 2000 a 2009 de 47,3% (IBGE, 2010). Por outro lado, a produtividade média dos rebanhos leiteiros do país é baixa, evidenciando a pouca evolução no aspecto tecnológico nas propriedades leiteiras. O aumento da produção de leite é mais resultado da expansão do plantel, que cresceu 3,87% em 2009, do que do aumento da produtividade dos rebanhos, que apresentou aumento de apenas 1,69% (IBGE, 2010).

Em 2009, o Nordeste foi a região brasileira com o maior crescimento relativo na produção de leite, com expressivo aumento de 10,4% em relação ao ano anterior (IBGE, 2010). A produção, em 2009, do Nordeste foi de aproximadamente 3,8 bilhões de litros, representando 13,1% do montante nacional, sendo a quarta região em volume produzido (IBGE, 2010).

A pecuária leiteira no Nordeste é caracterizada pela utilização, em larga escala, de bovinos mestiços, oriundos de cruzamentos de raças europeias e zebuínas, com ampla

variedade de graus de sangue. Este fato ocorre certamente, em razão das condições bioclimáticas da região, onde a criação de raças europeias mostra-se muito exigente quanto ao manejo. Dias González (1991) observou, que a diferença no desempenho reprodutivo dos animais com graus distintos de sangue, em que aqueles que apresentaram maior fração genética *Bos indicus* demonstraram maior eficiência na utilização dos alimentos, maior adaptabilidade às condições adversas e tendência a apresentar melhores índices reprodutivos em condições tropicais. Contudo, essas observações mostram-se conflitantes com as de outros estudos, em que animais com maior fração genética *Bos taurus* demonstraram maior eficiência reprodutiva (ALVES et al., 2002).

A puberdade para as fêmeas bovinas está relacionada com o primeiro estro que seja seguido de uma fase luteínica normal (HAFEZ & HAFEZ, 2004). Apesar das mudanças na liberação das gonadotrofinas nas fêmeas serem semelhantes entre as espécies *Bos taurus* e *Bos indicus*, geralmente as novilhas europeias atingem a puberdade e maturidade sexual mais precocemente (RODRIGUES et al., 2002).

Diversas biotecnologias estão disponíveis para aumentar os índices reprodutivos, destacando-se a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), a qual visa sincronizar a ovulação possibilitando inseminar os animais em dia e horário pré-determinado. Esta técnica elimina a necessidade da detecção de estro, sendo este, o principal problema da inseminação artificial (FERRAZ et al., 2008; GOTTSCHALL et al., 2008).

Os protocolos hormonais para IATF que têm sido mais usualmente utilizados no Brasil para sincronização do estro e ovulação, consistem na utilização de dispositivos de P₄ ou implantes contendo progestágeno associados a tratamentos com estradiol para sincronizar a emergência da onda de crescimento folicular (VASCONCELOS et al., 1994; BÓ et al., 1995). Nesse sentido, diversos estudos são realizados visando melhorias dos índices reprodutivos em fêmeas submetidas à técnica da IATF, entre eles os efeitos da concentração de progesterona durante o protocolo de IATF que não estão muito bem esclarecidos.

2. OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito de diferentes concentrações de progesterona sobre a dinâmica folicular em novilhas púberes Holandesas submetidas à sincronização do estro e ovulação.

2.1 Objetivos Específicos

Pesquisar as variáveis foliculares como:

- Diâmetro do folículo ovulatório;
- Diâmetro do folículo pré-ovulatório;
- Taxa de crescimento folicular diário;
- Relação entre \emptyset do FD e ovulação;
- Relação entre \emptyset do FD e concepção;
- Momento da ovulação,
- Taxa de ovulação;
- Taxa de concepção.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Dinâmica Folicular

Com o uso da ultrassonografia em estudos em reprodução animal, pode-se obter um maior entendimento da dinâmica dos processos ovarianos durante o ciclo estral. Frequentemente utilizada nos estudos de avaliação de dinâmica folicular, as informações obtidas são importantes para o entendimento das particularidades da fisiologia reprodutiva, de maneira que possam ser usadas para melhorar o desempenho reprodutivo dos animais (BORGES et al., 2001).

Com o monitoramento e a avaliação das estruturas presentes nos ovários, possibilitou-se estabelecer que o crescimento folicular ocorre na forma de ondas e que essa dinâmica é verificada em diversas fases da vida de uma fêmea desde duas semanas de vida até a pré-puberdade (BOLAMBA et al., 1994), puberdade, gestação (GINTHER et al., 1996) e no pós-parto (MURPHY et al., 1990; SAVIO et al., 1990).

A dinâmica folicular é conhecida como o processo contínuo de crescimento e regressão folicular (BORGES et al., 2004), o qual envolve a sincronia de desenvolvimento de um grupo de folículos, denominado onda folicular (GINTHER et al., 1989). O ciclo estral dos bovinos tanto das raças zebuínas (*Bos indicus*) como taurinas (*Bos taurus*) dura 21 dias, em média, variando de 17 a 24 dias e apresenta, geralmente duas ou três ondas foliculares (GINTHER et al., 1996; SARTORELLI et al., 2005; CASTILHO et al., 2007; GIMENES et al., 2008), e em menor frequência uma ou quatro ondas.

Em uma onda folicular, três fenômenos são morfológica e fisiologicamente caracterizados: emergência ou recrutamento, seleção ou desvio e dominância folicular.

A emergência da onda folicular é caracterizada por um crescimento sincrônico de mais de 20 pequenos folículos com diâmetro a partir de 2 mm (GINTHER et al., 1989; ALVAREZ et al., 2000; CARVALHO et al., 2008; ERENO, 2008) estimulados por um aumento transitório do FSH (ADAMS et al., 1992; FORTUNE, 2001). Aproximadamente três dias após a emergência folicular (folículos com 4 a 5 mm), quando o maior folículo atinge o diâmetro médio de 8,5 mm para *Bos taurus* (GINTHER et al., 1996) e cerca de 6,0 mm para *Bos indicus* (SARTORELLI et al., 2005; GIMENES et al., 2008; ERENO, 2008), ocorre o evento denominado desvio ou seleção folicular, momento em que ocorre a maior diferença na taxa de crescimento entre os dois maiores folículos da onda (GINTHER et al.,

1996). Destes, apenas um continua seu desenvolvimento (folículo dominante), enquanto os outros entram em processo de atresia tornando-se folículos subordinados (LUCY et al., 1992), estabelecendo-se então, o fenômeno da dominância folicular. Após este período, e na presença de um corpo lúteo funcional e alta concentração plasmática de progesterona, que promove redução da frequência da pulsatilidade do LH, o folículo dominante torna-se anovulatório. Logo após, começa o processo de atresia e perda da dominância, iniciando uma nova onda de crescimento folicular (GINTHER et al., 1989). No entanto, quando o folículo dominante está presente no momento da regressão luteínica (17 a 20 dias após a ovulação), este resulta na ovulação (FORTUNE et al., 2004). É sabido que para a manifestação e manutenção destes eventos, as gonadotrofinas hipofisárias (FSH e LH) são necessárias (GINTHER et al., 1996).

O FSH permite que os folículos mantenham seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade esteroidogênica (ADAMS et al., 1992), após atingir níveis máximas de concentração plasmática, o FSH diminui até níveis basais. Essa diminuição nos níveis de FSH, desde o início do declínio até o início da divergência, é influenciada pela presença dos folículos (GINTHER et al., 2001). Estradiol e inibina são os principais produtos foliculares responsáveis pela supressão do FSH. A inibina produzida pelos folículos em crescimento da onda parece ser o supressor mais importante do FSH durante os dois primeiros dias da onda emergente, daí em diante o estradiol secretado pelo folículo dominante assume a função de supressor do FSH (ADAMS & JAISWAL, 2008).

Assim, a partir do momento da divergência, apenas o maior folículo (dominante) contribui para o decréscimo do FSH, mesmo sendo dependente deste hormônio para continuar o seu crescimento. No início da divergência ocorrem modificações no desenvolvimento do maior folículo que o torna responsivo a baixas concentrações de FSH, porém para os outros essa quantidade é inadequada para o desenvolvimento (GINTHER et al., 2001). De acordo com Mihm, et al. (1994), a diminuição transitória das concentrações do FSH, próximo à divergência, é considerada ponto chave do mecanismo de divergência folicular.

Segundo Bao & Garverick (1998), a expressão de receptores de LH em células da granulosa está relacionada à dominância folicular. Já Beg et al. (2001) revelaram a expressão de RNAm do receptor de LH em maior concentração em futuros folículos dominantes em relação aos folículos subordinados antes do desvio folicular, onde sugeriu que a expressão precoce do receptor de LH em células da granulosa seria um evento

importante para a seleção folicular, embora ainda não esteja esclarecido se o aumento na expressão do receptor de LH é a causa ou a consequência do processo de dominância (ADAMS & JAISWAL, 2008).

Siqueira (2007) relata que o mecanismo exato que diferencia e capacita um folículo a ultrapassar o processo de divergência, tornando-o dominante, não está completamente compreendido. Porém, acredita-se que o sistema IGF (fator de crescimento semelhante à insulina) exerça um importante papel no processo, “hipersensibilizando” o futuro folículo dominante às ações das gonadotrofinas e impossibilitando o mesmo com os subordinados.

Vários fatores afetam o desenvolvimento folicular, entre eles: o nível nutricional, o estresse calórico e o anestro lactacional, que podem alterar o padrão de desenvolvimento folicular (ANTONIOLLI, 2002).

A função ovariana é influenciada pela nutrição devido ao fato que a alta ingestão de matéria seca promove maior metabolismo dos hormônios esteróides (VASCONCELOS et al., 2003) e resultando em menores concentrações sanguíneas dos hormônios. Além disso, as concentrações sanguíneas de IGF-1 em bovinos são diretamente influenciadas pelo nível nutricional dos animais (HOUSEKNECHT et al., 1988). Segundo GONG et al. (1997), o IGF-1 e a insulina estimulam a proliferação e a esteroidogênese das células da granulosa dos folículos pequenos (2 a 5 mm) em sinergismo com as gonadotrofinas.

De acordo com Wilson et al. (1998), o estresse térmico causou mais ciclos estrais caracterizados por 3 ondas, reduziu a concentração de estradiol 17β no sangue e aumentou o ciclo estral. O aumento do ciclo estral foi creditado à redução da concentração de estrógeno (E2) o qual participa do mecanismo uterino de luteólise. Observaram também que após a interrupção do estresse térmico as vacas apresentaram luteólise e re-início de seu desenvolvimento folicular normal.

Sartori et al. (2004) observaram que o estado lactacional pode influenciar a função ovariana, visto que vacas lactantes de alta produção têm maior metabolização hormonal, apresentando menor concentração de hormônios esteróides (estradiol e progesterona) em vacas Holandesas de alta produção comparadas às novilhas Holandesas.

3.2 Sincronização de estro, controle da emergência folicular e da ovulação

Há alguns anos vem se utilizando como solução para melhoraria dos índices reprodutivos os protocolos de sincronização do estro e da ovulação, onde se incluem a

sincronização do estro em fêmeas cíclicas e a indução do estro acompanhado de ovulação em novilhas que ainda não atingiram a puberdade ou em vacas em anestro pós-parto (LAMB, 2003).

Programas que empregam a IATF, sem a necessidade de detecção do estro, auxiliam de forma direta no emprego das biotecnologias. Dentre os programas existentes, destacam-se os protocolos que usam GnRH, LH e hCG e prostaglandinas e/ou progesterona e estrógenos, todos sempre visando a IATF (BARUSELLI et al., 2004).

Um programa deste tipo, deve apresentar, a campo, características desejáveis que incluam alta taxa de resposta ao tratamento hormonal (independente do estágio do ciclo estral em que o tratamento tenha início), sincronização da ovulação, alta fertilidade da ovulação, sincronização e retorno ao estro com alta taxa de concepção nos serviços posteriores (BARTOLOMEU et al., 2003).

Assim, os protocolos hormonais de indução do estro e ovulação são ferramentas que servem para melhorar os índices reprodutivos. Como uma das principais vantagens, destaca-se a possibilidade de viabilizar a IA de vacas em lactação, reduzir o intervalo parto/concepção, concentrar os partos, antecipar a prenhez na temporada de monta, padronizar os lotes de bezerros e aumentar a eficiência no índice de desmame (peso ao desmame e número de animais desmamados), refletindo diretamente na racionalização da mão-de-obra e no custo/benefício da pecuária (BARTOLOMEU et al., 2003).

Porém, para obter sucesso e evitar problemas no uso da sincronização do estro algumas condições devem ser respeitadas nas fêmeas selecionadas para este propósito, as quais são: intervalo de tempo adequado parição-sincronização (mínimo de 40 dias pós-parto); vacas com escore de condição corporal satisfatório (>3); ausência de problemas pós-parto anteriores e novilhas apresentando peso corporal de, no mínimo, 65% do peso adulto final (PATTERSON et al., 1999 citado por COSTA, 2006).

De acordo com Day (2005), as novilhas são ótimas candidatas para a IA, tanto por razões práticas quanto por razões fisiológicas, ou seja, como não pariram anteriormente, não apresentam complicações como o anestro pós-parto, não apresentam problemas provocados por distorcia e remoção de bezerro, assim, novilhas submetidas a um manejo que não apresenta grandes variações na condição corporal facilitam o início de um programa de IA. Além disso, do ponto de vista genético, as novilhas representam as melhores fêmeas do rebanho, as mais avançadas geneticamente, como resultado de decisões anteriores relativas à reprodução.

Na sincronização do estro e ovulação, as substâncias mais usadas são os agentes luteolíticos, tais como prostaglandina ($PGF2\alpha$) e análogos sintéticos que podem ser associados a substâncias que prolongam artificialmente o estado funcional do CL (progesterona e/ou progestágenos) ou que induzam a ovulação, como o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), gonadotrofina coriônica humana (hCG) e estrógenos (BARUSELLI, 2004). Sabe-se, ainda que, a utilização de progesterona ou progestágenos em dispositivos intravaginais ou auriculares é a forma mais eficiente de sincronização de estro em bovinos. Assim, vários protocolos foram desenvolvidos com este propósito (GORDON, 1996 citado por COSTA, 2006).

A prostaglandina e seus análogos sintéticos são os fármacos mais usados na sincronização de estros (ODDE, 1990), sendo descoberta na década de 70 (MCCRACKEN, 1972) com poder de regular o ciclo estral da fêmea por provocar a regressão do CL. O efeito desta substância é desencadear a regressão do CL maduro (luteólise), quando presente, ocasionando uma diminuição nos níveis sanguíneos de progesterona, resultando em estro e ovulação de dois a cinco dias após o tratamento (DAY, 2005). Porém, quando se usa um tratamento de sincronização do estro com prostaglandina, exclusivamente, para IATF, as taxas de fertilidade são baixas. Este fato se deve ao estágio variável de crescimento folicular no animal tratado, não sincronizando a onda de crescimento folicular.

A responsividade do CL à $PGF2\alpha$ tem início no 5º dia do ciclo estral, aumentando até o 12º dia pós-ovulação e permanece em fase de platô até o 17º dia do ciclo estral, quando se inicia a regressão espontânea causada pela liberação endógena desse hormônio (ODDE, 1990; LARSON & BALL, 1992).

Day (2005), estudando a responsividade do CL à aplicação $PGF2\alpha$, observou que fêmeas tratadas entre os dias 5-9 do ciclo estral, obtiveram baixas taxas de luteólise (67%), intermediária para as tratadas entre dias 9-12 (77%) e maiores taxas em fêmeas tratadas após o dia 12 do ciclo (91%), relatou também que, após o dia 17 do ciclo estral, a $PGF2\alpha$ parece não influenciar no momento do estro, mas como estas fêmeas irão apresentar cio espontâneo nos próximos 2-6 dias, estarão automaticamente sincronizadas.

Objetivando melhorias da sincronização do estro com $PGF2\alpha$, Jackson et al. (1979) desenvolveram protocolos com duas aplicações sequenciais, com intervalos de 11-14 dias. Outro sistema proposto para melhoria na eficiência da $PGF2\alpha$ é a observação de estro por 5 dias, com a aplicação de $PGF2\alpha$ no dia 6, para evitar tratar animais com CL não responsivo

ao tratamento. Além disso, o estro e a ovulação não são precisamente sincronizados devido à variação do estágio de desenvolvimento folicular no momento da regressão do CL, já que alguns animais apresentam atraso no desenvolvimento e na maturação do folículo ovulatório. Assim, faz-se necessária a detecção de estro após a aplicação de PGF2 α para a realização da IA e para a obtenção de melhores taxas de concepção (STEVENSO et al., 1999).

Outro hormônio muito utilizado em protocolos de sincronização é o GnRH, que inicialmente, era indicado apenas para bovinos com cistos ovarianos (SEGUIN et al., 1978). Posteriormente, foi descoberta a valiosa utilidade deste hormônio para o controle da dinâmica folicular e luteal. Twagiramungu et al. (1992) fizeram o relato de que uma injeção de buserelina (agonista do GnRH), 6 dias antes da PGF2 α aumentou a taxa de sincronização em bovinos de corte. Além disso, o uso de GnRH 7 dias antes da PGF2 α também melhorou a taxa de sincronização em vacas leiteiras em lactação (THATCHER et al., 1993).

As consequências do uso do GnRH em programas de reprodução foram melhor esclarecidas após o desenvolvimento do protocolo de inseminação programada “OVSYNCH”, onde se combinam tratamentos que visam o controle tanto da dinâmica folicular como luteal, fazendo com que o tempo de ovulação possa ser sincronizado com exatidão (PURSLEY et al., 1995). Após a sua criação, este protocolo vem sendo utilizado largamente na indústria leiteira (WILTBANK & HAUGHIAN, 2003).

Mas, Thatcher et al. (2002) ressaltam que o sucesso do “OVSYNCH” depende do estágio do ciclo estral em que a fêmea se encontra no momento do início do protocolo. Para esses autores, melhores resultados são obtidos quando o início se dá no quinto dia do ciclo estral (início do diestro).

O PRESYNCH é outro programa em que uma sincronização de estro é realizada previamente ao início do protocolo “OVSYNCH”. Essa pré-sincronização é realizada com a administração de duas doses de PGF2 α intervaladas de 14 dias, iniciando-se o “OVSYNCH” 12 dias após a segunda dose de PGF2 α . Segundo Thatcher et al. (2002), aquele programa eleva a taxa de prenhez do protocolo “OVSYNCH” em 12%. O incremento na taxa de prenhez se deve à manipulação do ciclo estral, de forma que o protocolo é iniciado em momento favorável do ciclo estral, mais especificamente, na fase inicial do diestro.

Deve-se ressaltar, entretanto, que o protocolo “OVSYNCH” não é indicado para novilhas, uma vez que estas apresentam menor resposta ao tratamento, resultando em taxas de ovulação, após a primeira injeção de GnRH, da ordem de 50% (MARTINEZ et al., 2000), ao passo que em vacas esse índice varia de 64% (VASCONCELOS et al., 1999) a 90% (PURSLEY et al., 1995).

O tratamento consiste em uma injeção de PGF2 α nas vacas tratadas previamente (seis a sete dias) com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). O tratamento com GnRH induz uma descarga hipofisária de hormônio luteinizante (LH), seguida da ovulação ou regressão (atresia) de um eventual folículo dominante, resultando na emergência de uma nova onda folicular dois a três dias seguintes à injeção do GnRH (WOLFENSON et al., 1994; PURSLEY et al., 1995). A sincronia do estro e, particularmente, da ovulação, pode ser aumentada consideravelmente (mais de 90%) administrando uma segunda injeção de GnRH, 36 a 48 horas após a PGF2 α . A fertilidade dos animais inseminados em tempo prefixado (16 a 24 horas após a injeção do GnRH) é semelhante à verificada em animais inseminados no estro observado (PURSLEY et al., 1995).

Em estudo realizado por Alvarez et al. (2003), os autores obtiveram uma taxa de concepção dos animais inseminados com tempo pré-fixado de 41,4% não foi diferente ($P > 0,05$) dos inseminados no estro induzido (53,1%) ou natural (49,1%).

Neste contexto, alguns autores relataram que a taxa de concepção de fêmeas bovinas de leite sincronizadas pelo protocolo “OVSYNCH” e inseminadas artificialmente em tempo fixo varia de 26 a 55% (PURSLEY et al., 1995; VASCONCELOS et al., 1999).

Um método mais promissor é o uso do Ovsynch duplo, ou seja, submeter à vaca a dois programas de Ovsynch e inseminá-la somente ao final do segundo programa. Souza et al. (2008) observaram que o uso desse programa melhorou a fertilidade de vacas de leite quando comparado com o programa de pré-sincronização tradicional baseado em 2 doses de PGF2 α , obtendo 41,7% e 49,7% de concepção, respectivamente. Em estudo recente, Ribeiro et al. (2009) comparou a mesma estratégia em mais de 1.300 vacas em 3 rebanhos em sistema de pastejo e não observou melhora geral na fertilidade. Entretanto, nas 162 vacas anovulares, o uso do Ovsynch duplo foi superior ($P = 0,07$) à pré-sincronização com PGF2 α somente [40,0 (30/75) vs. 26,4% (23/87)].

A utilização da P₄ com o objetivo de sincronização de estros em bovinos provém dos anos 50, sendo, de início, administrados por períodos de 11-14 dias. Com o passar do tempo, este intervalo diminuiu para 7-9 dias, devido aos baixos índices de fertilização após

a sincronização e, deste modo, obtiveram-se melhores índices de gestação segundo GORDON (1996) citado por COSTA (2006).

Fortune & Rivera (1999) esclarecem que períodos prolongados de utilização de P₄ levam à formação de folículos persistentes. Além disso, os oócitos oriundos destas ovulações não se desenvolviam plenamente em razão da ativação precoce da meiose, a qual em condições normais ocorre pela liberação pré-ovulatória de LH.

Nos protocolos hormonais de sincronização a base de P₄, o mecanismo de ação é por meio da retroalimentação negativa que estas promovem sobre a secreção de LH, mas não interfere na secreção de FSH, inibindo a ovulação. Ao retirar a fonte de P₄, e na ausência de um CL funcional pela aplicação de uma prostaglandina, o animal apresentará um folículo ovulatório capaz de responder à indução da ovulação. Para tanto, associando-se ao final do tratamento com o P₄ um GnRH ou estrógeno que irá promover a indução da ovulação em um tempo pré-determinado, independentemente, do momento em que se iniciou o protocolo (BÓ et al., 1994).

Dentre as formas de controle do crescimento folicular, o tratamento com progesterona e estradiol tem se mostrado eficaz na indução da atresia dos folículos em desenvolvimento e na emergência de uma nova onda folicular 3 a 5 dias depois (BÓ et al., 1994; 1995). Desta maneira, o benzoato de estradiol (BE) no início do tratamento com progesterona promove a atresia dos folículos dominantes presentes e a emergência de uma nova onda folicular (BRAGANÇA et al., 2004).

A aplicação de PGF₂ α e seus análogos sintéticos 2 dias antes ou no momento de retirada do implante intravaginal tem sido recomendada para assegurar a luteólise, uma vez que o benzoato de estradiol não se mostrou efetivo na indução da luteólise (DISKIN et al., 2002). Nos 7-8 dias em que o implante intravaginal permanece na vagina, a absorção da P₄ não afeta a luteólise espontânea, ou seja, supondo-se que todas as novilhas e vacas têm ciclo estral de 21 dias, haverá duas populações de fêmeas após 6 dias de tratamento com P₄, fêmeas sem e com CL mais de 6 dias após a ovulação. Deste modo, todas as fêmeas apresentariam CL, potencialmente, responsivo à PGF₂ α (LAMB, 2003).

O “CIDR[®]” é um dispositivo intravaginal que contém P₄, hormônio natural, utilizado junto com outros hormônios para a sincronia do estro em novilhas e vacas. Foi desenvolvido na Nova Zelândia, sendo utilizado há vários anos para adiantar o estro de novilhas na puberdade e o primeiro estro de vacas no pós-parto. Trata-se de um dispositivo

em forma de “Y” com abas flexíveis que dobram para formar uma haste que pode ser inserida na vagina com o auxílio de um aplicador (LAMB, 2003).

Costa (2006), concluiu que o protocolo “CIDR[®]” mostrou ser muito eficiente na indução da puberdade em novilhas Girolandas com grau de sangue 3/8 Holandês x 5/8 Gir, por ter permitido boas taxas de concepção e prenhez na primeira IA, reduzindo, conseqüentemente, à idade ao primeiro parto.

3.3 Efeito da concentração de progesterona na fertilidade em protocolos de IATF

Vários estudos em vacas de leite e de corte relatam que altas concentrações circulantes de P₄ podem diminuir a frequência dos pulsos de LH (IRELAND & ROCHE, 1982; ROBERSON et al., 1989; BERGFELD et al., 1995; BURKE et al., 1996; CALEJAS et al., 2006), reduzindo assim, o crescimento do folículo dominante e a eficiência dos protocolos de IATF que utilizam a P₄ (BARUSELLI et al., 2001) e que concentrações inferiores ao produzido pelo corpo lúteo de P₄ tem sido associadas a um maior crescimento folicular (SAVIO et al., 1993).

É sabido que durante o ciclo estral da fêmea bovina, o folículo dominante da primeira onda tem uma maior taxa de crescimento que o folículo dominante da onda seguinte, ovulatória (GINTHER et al., 1989), pois na fase luteal inicial as concentrações de P₄ são baixas e a frequência dos pulsos de LH mais elevada. Já durante a metade da fase luteínica, as altas concentrações de P₄ reduzem a frequência e aumentam a amplitude dos pulsos de LH (RAHE et al., 1980).

Carvalho et al. (2008) em estudo utilizando novilha *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*, observaram que o grupo que recebeu PGF no momento da inserção do dispositivo intravaginal (D0), tiveram um aumento na taxa de crescimento do FD, sugerindo que o resultado tenha sido pela redução dos níveis circulantes de P₄ e conseqüentemente, pelo aumento dos pulsos de LH.

Em outro estudo realizado por Dias (2007) onde avaliou a influência da concentração sérica da P₄ nos dias 0 e 7 do protocolo de IATF e da reutilização de implantes intravaginais de P₄ (CIDR, novo e previamente utilizado por 9 e 18 dias) em novilhas Nelore cíclicas, e observou que houve efeito da pré-utilização do CIDR na taxa de concepção (37,2%, 37,8% e 53,2%) e na taxa de prenhez (20,5%, 22,7% e 35,5%) para dispositivos novo, 2º e 3º uso, respectivamente.

Colazo et al. (2008) verificaram que novilhas com menor concentração de P_4 apresentaram melhores taxas de ovulação (90% e 30% para baixa e alta P_4 , respectivamente) e Cipriano (2007), avaliando a secreção de LH e FSH plasmático em novilhas expostas a diferentes concentrações de P_4 , concluíram que o excesso de P_4 suprimiu a concentração de LH e interferiu na secreção de FSH, desenvolvimento folicular e ovulação.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H.; GINTHER, O.J. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 94, n.1, p.177-188, 1992.

ADAMS, G.P.; JAISWAL, R. Dinâmica folicular em bovinos: Visão geral da história e atualização. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 36 (supl. 2). P. 377-396, 2008.

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

ALVAREZ, R. H.; MARTINEZ, A. C.; CARVALHO, J. B. P.; ARCARO, J. R. P.; PIRES, R. M. L.; OLIVEIRA, C. A. Eficácia do tratamento Ovsynch associado à inseminação artificial prefixada em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília*, v. 38, n. 2, p. 317-323, 2003.

ALVES, N. G.; COSTA, E. P.; GUIMARÃES, J. D.; SILVA, M. R.; ZAMPERLINI, B.; COSTA, F. M. J.; SANTOS, A. D. F.; NETO, T. M. Atividade Ovariana em Fêmeas Bovinas da Raça Holandesa e Mestiças Holandês x Zebu, Durante Dois Ciclos Estrais Normais Consecutivos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.31, n.2, p.627-634, 2002.

ANTONIOLLI, C. B. **Desenvolvimento folicular, ondas foliculares e manipulação.** 2002. 15f. Seminário (Seminário apresentado na disciplina de Endocrinologia da Reprodução do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. Disponível em: <http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/foliculos.pdf>. Acesso em: 02 mar 2011.

ANUALPEC 2008. **Anuário Estatístico da Pecuária de Leite.** FNP. São Paulo SP, 2008.

BAO, B.; GARVERICK, H.A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. *Journal of Animal Science*, v. 76. P. 1903-1921, 1998.

BARTOLOMEU, C.C.; DEL REI, A.J.; OLIVEIRA, M.A.L. LIMA, P.F.; SILVA, J.E. Inseminação artificial em tempo fixo de vacas leiteiras mestiças Holando-Zebu no pós-parto com emprego de CIDR reutilizado. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.27, n.3, p.426-427, 2003.

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

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

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

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

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

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

BOLAMBA, D.; MATTON, P.; ESTRADA, R. Ovarian follicular dynamics and relationship between ovarian types and serum concentrations of sex steroids and gonadotrophin in prepubertal gilts. *Animal Reproduction Science* v.36, p.291-304, 1994.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; ROCHA JUNIOR, V.R.; CARVALHO, G.R. Ovarian follicular dynamics in crossbred Holstein-Zebu heifers. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 53, n 5, p.595-604, 2001.

BORGES, A.M., TORRES, C.A.A., ROCHA JÚNIOR, V.R., RUAS, J.R.M., GIOSO, M.M. FONSECA J.F., CARVALHO G.R., MAFFILI V.V. Dinâmica folicular e momento da ovulação em vacas não lactantes das raças Gir e Nelore durante duas estações do ano *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.3, p.346-354, 2004.

BRAGANÇA, J.F.M.; GONÇALVES, P.B.D.; BASTOS, G.M. et al. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. *Revista Brasileira de Reprodução Animal.*, v.28, n.2, p.73-77, 2004.

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, p. 13 – 28, 1996.

CALLEJAS, S.S., ALBERIO, R., CABODEVILA, J., DULOUT, F., ALLER, J., CATALANO, R., TERUEL, M. Influence of different doses of progesterone treatments on ovarian follicle status in beef cows. *Animal Reproduction Science*, v.91, p.191-200, 2006.

CARVALHO, J.B.P., CARVALHO, N.A.T., REIS, E.L., NICHI, M., SOUZA, A.H., BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus x Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.167-175, 2008.

CASTILHO, C., GARCIA, J.M., RENESTO, A., NOGUEIRA, G.P., BRITO, L.F. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular

deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Theriogenology*, v.98, p.189-196, 2007.

CLARO JUNIOR, I. **Desempenho reprodutivo de novilhas Nelore pré-púberes expostas à progesterona**. Universidade Estadual Paulista, 2009. 75 p. Dissertação (Mestrado em reprodução animal) 2009.

CIPRIANO, R.S. **Variação na secreção de LH, FSH e no desenvolvimento folicular de novilhas Nelore submetidas e protocolos de inseminação artificial em tempo fixo com diferentes concentrações de progesterona**. Universidade Estadual Paulista, 2007. 84p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) 2007.

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

COSTA, A. N. L. **Sincronização do estro e da ovulação em novilhas girolandas: comparação entre dois protocolos hormonais “CIDR-B” e “Ovsynch”**. Universidade Federal do Ceará, 2006. 92p. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) 2006.

DAY, M.L. Protocolos de sincronização de estro comumente utilizados em novilhas nos EUA. *In: IX Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. Anais...*Uberlândia-MG, p. 247-257, 2005.

DIAS, C. C. **Avaliação dos efeitos da concentração de progesterona nas respostas ao protocolo de sincronização da ovulação em novilhas Nelore cíclicas**. Universidade Estadual de São Paulo, 2007. Dissertação (Mestrado em Reprodução Animal) 2007.

DIAS GONZALES, F.H. **Efeito da condição corporal de novilhas sobre a fertilidade, perfil metabólico pós-serviço e a sobrevivência embrionária**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1991. 160p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1991.

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

ERENO, R.L. **Expressão gênica do receptor do hormônio luteinizante (LHR), em células da granulosa de folículos de novilhas Nelore antes, durante e após a divergência folicular.** 2008. 65p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

FERRAZ, H. T.; VIU, M. A. O.; LOPES, D. T. Sincronização da ovulação para realização da inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. *Pubvet*, v.2, n.12, mar. 4, 2008.

FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M. Folículo dominante persistente em bovinos: aspectos básicos e aplicados. *Arquivos Faculdade de Veterinária*, UFRGS, v.27, p.22-34, 1999.

FORTUNE J.E., RIVERA G.M., EVANS A.C., TURZILLO A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biology of Reproduction*, 2001.

FORTUNE J.E., RIVERA G.M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Animal Reproduction Science*, v. 82-83, p.109-126, 2004.

GIMENES, L.U., SÁ FILHO, M.F., CARVALHO, N.A.T., TORRES-JUNIOR, J.R.S., SOUZA, A.H., MADUREIRA, E.H., TRINCA. L.A., SARTORELLI, E.S., BARROS, C.M., CARVALHO, J.B.P., MAPLETOFT, R.J., BARUSELLI, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.852-858, 2008.

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

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

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; DONADEU, F.X.; KOT, K. Follicle selection in monovular species. *Biology of Reproduction*, v.65, p.638-647, 2001.

GONG, J. G.; BAXTER, G.; BRAMLEY, T. A.; WEBB, R. Enhancement of ovarian follicle development in heifers by treatment with recombinant bovine somatotrophin: a dose-response study. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 110, p. 91-97, 1997.

GOTTSCHALL, C. S.; MARQUES, P.R.; CANELLAS, L.C. et al. Aspectos relacionados à sincronização do estro e ovulação em bovinos de corte. *A Hora Veterinária*, v.164, p.43-48, 2008.

HAFEZ, E. S. E. & HAFEZ, B. **Reprodução animal**. 7. ed. Editora Manole, São Paulo SP, 2004.

HOUSEKNECHT, K., L.; BOGGS, D. L.; CAMIOM, D. R.; SARTIN, J. L.; KISER, T. E.; RAMPACEK, G. B.; AMOS, H. E. Effect of dietary energy-source and level on serum growth-hormone, insulin-like growth factor-i, growth and body-composition in beef heifers. *Journal of Animal Science*, v. 66, p. 2913-2923, 1988.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso em: 19 de agosto de 2010.

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

JACKSON, P.S; JOHNSON, C.T.; FURR, B. J.; BEATTIE, J.F. Influence of stage of estrous cycle on the time to estrous following cloprostenol treatment in the bovine. *Theriogenology*, v.12, p.153-167, 1979.

LAMB, G.C. Avaliação de protocolos de sincronização que utilizam implantes de progesterona. *In: VII Curso Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos. Anais...* Uberlândia-MG, p. 199-211, 2003.

LARSON, L. L.; BALL, P. H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology*, v. 38, n. 2, p. 255-267, 1992.

LUCY, M. C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.I. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal of Animal Science*, v. 70, p. 3615-3626, 1992.

MARTINEZ, M.F.; ADAMS, G.P.; KASTELIC, J.P.; BERGFELT, D.R.; MAPLETOFT, R.J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*, v.54, n. 5, p.757-769, 2000.

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

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

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

MUSTEFAGA, P.S.; NOGUEIRA, A.A. Perspectiva da produção de carne bovina no Brasil. 2004. Disponível em www.beefpoint.com.br. Acesso em 20 de Março de 2011.

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

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

RAHE, C. H. ; OWENS, R. E. ; FLEEGER, J. L. ; NEWTON, H. J. ; HARMS, P. G. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, v. 107, p. 498 - 503, 1980.

RIBEIRO, E.S., R.L.A. CERRI, R.S. BISINOTTO, F.S. LIMA, F.T. SILVESTRE, W.W. THATCHER, AND J.E.P. SANTOS. Reproductive performance of grazing dairy cows following presynchronization and resynchronization protocols. *Journal of Dairy Science*. 2009.

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

RODRIGUES, H. D.; KINDER, J. E.; FITZPATRICK, L. A. Estradiol Regulation of Luteinizing Hormone Secretion in Heifers of Two Breed Types That Reach Puberty at Different Ages. *Biology of Reproduction*, v. 66, p. 603-609, 2002.

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*, 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 Science*, v. 87, n. 4, p. 905-920, 2004.

SAVIO, J.D.; BOLAND M.; ROCHE J.F. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*. v.88, p.581-591, 1990.

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

SEGUIN, B.E.; GUSTAFSON, B.K.; HURTGEN, J.P.; MATHER, E.C.; REFSAL, K.R.; WESCOTT, R.A.; WITHMORE, H.L. Use of the Use of the prostaglandin F_{2α} analog cloprostenal in dairy cattle with unobserved estrus. *Theriogenology*, v.10, p.55-64. 1978.

SIQUEIRA LC. **Esteróides no controle da regressão de folículos de diferentes diâmetros para uso em sistemas de inseminação artificial em tempo fixo de vacas de corte no pós-parto.** 2007. 77f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 2007.

SOUZA, A.H. **Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Vacas Holandesas de Alta Produção.** 2008, 152f. Tese (Doutorado), Universidade de São Paulo - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Pirassununga, SP, 2008.

STEVENSON, J.S; KOBAYASHI, Y.; THOMPSON, K.E. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including ovsynch and combinations gonadotropin-releasing hormone and PGF_{2α}. *Journal of Dairy Science*, v.82, p.506-515, 1999.

THATCHER, W.W.; DROST, M.; SAVIO, J.D.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W.; SCHMITT, E.J.; DE LA SOTA, R.L.; MORRIS, G.R. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Animal Reproduction Science.*, v.33, p.27-49, 1993.

THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; PANCARCI, S.M. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian functions. *Domestic Animal Endocrinology*, v.23, p. 243-254, 2002.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*, v.38, p.11-31. 1992.

VASCONCELOS, J. L. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. Effects of synchro-mate B combined with Ngr. On follicular dynamics and time of ovulation. *Journal of Dairy Science*, v. 77 (Suppl. 1), p. 174, 1994 (abstract).

VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, M.R.W.; PURLEY, J.R.; WILTBANK, M.C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrus cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, Woburn, v.52, n.6, p.1067-1078, 1999.

VASCONCELOS, J. L. M.; SANSRITAVONG, S.; TSAI, S. J.; WILTBANK, M. C. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. *Theriogenology*, v. 60, p. 795-807, 2003.

WILSON, S.J., KIRBY, C.J., KOENIGSFIELD, A.T., KEISLER, D.H., LUCY, M.C. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle Heifers. *Journal of Dairy Science*, v. 81, p. 2132-2138, 1998.

WILTBANK, M.C.; HAUGHIAN, J.M. GnRH: Bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização. In. VII Curso Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos. *Anais...* Uberlândia-MG, p. 121-131. 2003.

WOLFENSON, D.; THATCHER, W.W.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; LUCY, M.C. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology*, v.42, n. 4, p.633-644, 1994.

5. ARTIGO CIENTÍFICO

EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PROGESTERONA SOBRE A DINÂMICA FOLICULAR EM NOVILHAS HOLANDESAS (*Bos taurus*) SUBMETIDAS À SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO E OVULAÇÃO¹

G.A. Veras^{2*}; P.F.M.P. Souto³; E.M. Cavalcante³; A.S. Santos Filho⁴; S.I. Guido⁴; C.C. Bartolomeu³.

ABSTRACT. – The aim of this study was to evaluate the effect of different progesterone concentrations (P4) on follicular dynamics in Holstein heifers (*Bos taurus*) subjected to synchronization of estrus and ovulation. There were used 20 pubertal Holstein heifers receiving an intravaginal devices at D0 containing 0.75 g of P4 in G1 (n = 10) and 1 g of P4, in G2 (n = 10) along with 2 mg BE im. At D7, there were applied 530µg of cloprostenol and 300 IU of eCG im, at D8 intravaginal devices were removed. At D9, heifers in both groups received 1mg of EB im and at D10 TAI were proceeded. The ovarian activity was monitored at D0, D4, D8, D10 and at each 6 hours after TAI until ovulation. No significant effect was observed between wave synchronization (100 vs. 100%), ovulation rate (70 vs. 89%), time of ovulation (60.5 ± 2.65 vs. 64.5 ± 0.33 h) and conception rate (40 vs. 44.4%) between G1 and G2, respectively. The dominant follicle average diameter at D9 between heifers that ovulated from G1 was $14,8 \pm 0,6$ mm and in G2 $11,2 \pm 1,6$ mm presenting no statistical difference (P=0.07) the same way was not also observed difference between heifers that did not ovulate from G1 (9.6 ± 0.7 mm and in G2 (7.7 ± 0.03)(P=0.42). .) Already when comparing the average diameters of dominant follicles in D9 between the heifers that ovulated (14.8 ± 0.6 mm) and those that did not ovulate (9.6 ± 0.7 mm) from G1, it was observed significant difference (P < 0.05), as well as from G2 ($11,2 \pm 1.6$ vs. 7.7 ± 0.03 mm). The ovulation rate increased significantly in the follicles larger than 11 mm, measured on D9 However, conception rates were higher when the follicles were larger than 8 mm on D9. In the present study, no significant effect was observed in DFØ, OFØ, time of ovulation, ovulation and conception rates in pubertal Holstein heifers, but animals receiving device with lower concentrations of P4 in D0 showed higher daily rate growth follicular.

INDEX TERMS: Progesterone, follicular dynamics, Holstein heifers, TAI.

RESUMO. - O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de progesterona (P_4) sobre a dinâmica folicular em novilhas Holandesas (*Bos taurus*) submetidas à sincronização de estro e ovulação. Foram utilizadas 20 novilhas Holandesas púberes, onde no D0, G1 (n=10) receberam dispositivos intravaginais com 0,75 g de P_4 e G2 (n= 10), 1g de P_4 associado à 2 mg de BE i.m., no D7, 530 μ g de cloprostenol sódico e 300 UI de eCG i.m. e no D8, os dispositivos foram removidos. No D9, foi aplicado 1 mg de BE i.m. e no D10, a IATF. As ultrassonografias dos ovários foram realizadas no D0, D4, D8, D10 e de 6/6 horas até a ovulação. Não houve efeito ($P>0,05$) entre a sincronização da onda, taxa de ovulação, momento da ovulação e taxa de concepção entre G1 e G2. O \emptyset FD no D9 ($13,5\pm 0,1$ vs. $10,8\pm 1,7$ mm) não diferiu entre os grupos, assim como o \emptyset máx. FD ($14,3\pm 1,5$ vs. $11,9\pm 0,86$ mm) e do \emptyset máx. FO ($14,7\pm 0,74$ vs. $12,3\pm$ mm), todavia a taxa de crescimento diário dos folículos foi superior ($P<0,05$) no G1 que no G2 ($1,6\pm 0,12$ vs. $1,0\pm 0,18$ mm/dia). O diâmetro médio do folículo dominante no D9 entre as novilhas que ovularam do grupo G1 foi $14,8\pm 0,6$ mm e no G2 $11,2\pm 1,6$ mm não se observando diferença estatística entre os tratamentos ($P=0,07$), da mesma forma que também não se observou diferença entre novilhas que não ovularam do G1 ($9,6\pm 0,7$ mm) e do G2 ($7,7\pm 0,03$ mm) ($P=0,42$). Já ao se comparar os diâmetros médios dos folículos dominantes no D9 entre as novilhas que ovularam ($14,8\pm 0,6$ mm) e as que não ovularam ($9,6\pm 0,7$ mm) do G1, observou-se diferença ($P<0,05$), assim como no G2 ($11,2\pm 1,6$ vs. $7,7\pm 0,03$ mm). A taxa de ovulação aumentou significativamente nos folículos maiores de 11 mm, mensurados no D9, no entanto, as taxas de concepção foram maiores quando os folículos se encontravam maiores que 8 mm, no D9. No presente estudo não foi observado efeito significativo no \emptyset FD, \emptyset FO, momento da ovulação, taxas de ovulação e concepção em novilhas púberes Holandesas, porém os animais que receberam dispositivo com menor concentração de P_4 no D0 apresentaram maior taxa de crescimento folicular diário.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Progesterona, dinâmica folicular, novilhas Holandesas, IATF.

INTRODUÇÃO

A ultrassonografia transretal tem sido frequentemente utilizada nos estudos de avaliação de dinâmica folicular e as informações obtidas são importantes para o entendimento das particularidades da fisiologia reprodutiva, de maneira que possam ser usadas para melhorar o desempenho reprodutivo dos animais (BORGES et al., 2001).

Com o monitoramento e a avaliação das estruturas presentes nos ovários (folículos e CL), possibilitou-se evidenciar que o crescimento folicular ocorre na forma de ondas e que essa dinâmica é verificada em diversas fases da vida de uma fêmea desde duas semanas de vida até a pré-puberdade (BOLAMBA et al., 1994), puberdade, gestação (GINTHER et al., 1996) e no pós-parto (MURPHY et al., 1990, SAVIO et al., 1990). Dessa forma, o conhecimento da dinâmica folicular, através do comportamento das ondas de crescimento folicular, favoreceu a execução de programas de superovulação, sincronizações do ciclo estral e da ovulação.

Os protocolos de IATF, largamente utilizados atualmente, onde se incluem a sincronização do estro em fêmeas cíclicas ou em vacas que não voltaram a apresentar estro após a parição, além da indução do estro acompanhado de ovulação em novilhas que ainda não atingiram a puberdade (LAMB, 2003), viabilizou as biotecnologias da reprodução, possibilitou melhoria nos índices reprodutivos e, conseqüentemente, avanços na evolução genética nos rebanhos de produção de leite e carne no Brasil.

A associação hormonal mais usualmente utilizada no Brasil para IATF consiste na utilização de dispositivos de progesterona juntamente com o estradiol, com o objetivo de sincronizar a emergência da onda de crescimento folicular (VASCONCELOS et al., 1994; BÓ et al., 1995) uma dose de $PGF_{2\alpha}$ para lisar o corpo lúteo presente e um indutor de ovulação, 30-36 horas antes da inseminação artificial.

Várias pesquisas são realizadas com o intuito de criar novas estratégias para melhorar índices reprodutivos em fêmeas submetidas a protocolos de IATF. Não é de hoje, que estudos em bovinos sugerem que altas concentrações de P_4 podem diminuir a frequência dos pulsos de LH e o crescimento folicular (IRELAND & ROCHE, 1982; ROBERSON et al., 1989; SAVIO et al., 1993).

Nesse contexto, o presente estudo teve o objetivo de avaliar o efeito de diferentes dispositivos de progesterona sobre a dinâmica folicular, em novilhas Holandesas (*Bos taurus*) submetidas à sincronização de estro e ovulação.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização e animais

O estudo foi realizado na Estação Experimental de São Bento do Una (EESBU), pertencente ao Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, localizada no município de São Bento do Una, Pernambuco, Brasil, latitude 08 31' 35", longitude 036 27' 34,8" e

índice de temperatura e umidade (ITU) médio de 63,5, durante os meses de setembro a dezembro de 2012.

Foram utilizadas 19 novilhas púberes da raça Holandesa com peso médio de $409 \pm 20,0$ kg no G1 e $422 \pm 22,0$ kg no G2, apresentando escore de condição corporal entre 3-3,5, considerando uma escala de 1 a 5, segundo EDMONSON et al. (1989); BROSTER e BROSTER (1998; Fig. 4). Os animais foram mantidos em sistema de criação intensivo, conforme o regime da fazenda, consumindo durante o período experimental, silagem de sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor*), palma forrageira (*Napolea cochenilifera*), concentrado com 24% PB, sal mineral e água *ad libitum*.

Grupos experimentais

As novilhas foram distribuídas em dois grupos experimentais, onde em dia aleatório do ciclo estral, dia 0 (D0) as fêmeas do Grupo 1 (G1; n=10) e Grupo 2 (G2; n=9) receberam dispositivos intravaginais contendo 0,75 g de P₄ (*Procliar*[®], *Hertape Calier, Minas Gerais, Brasil*) e 1 g de P₄ (*Primer*[®], *Tecnopec, São Paulo, Brasil*) respectivamente, associado à 2 mg de BE (*Estrogin*[®], *Farmavet, São Paulo, Brasil*) intramuscular. No dia 7 (D7) do protocolo foi aplicado 530 µg de cloprostenol sódico (*Ciosin*[®], *Schering-Plough Saúde Animal, São Paulo, Brasil*) e 300 UI de eCG (*Novormon*[®], *Schering-Plough Saúde Animal, São Paulo, Brasil*), intramuscular e no dia 8 (D8), os dispositivos intravaginais foram removidos. Após 32 horas da retirada dos dispositivos, dia 9 (D9), foi aplicado 1 mg de BE (*Estrogin*[®], *Farmavet, São Paulo, Brasil*) em ambos os grupos e realizada a inseminação artificial em tempo fixo 54 horas após a remoção dos dispositivos (Fig. 1).

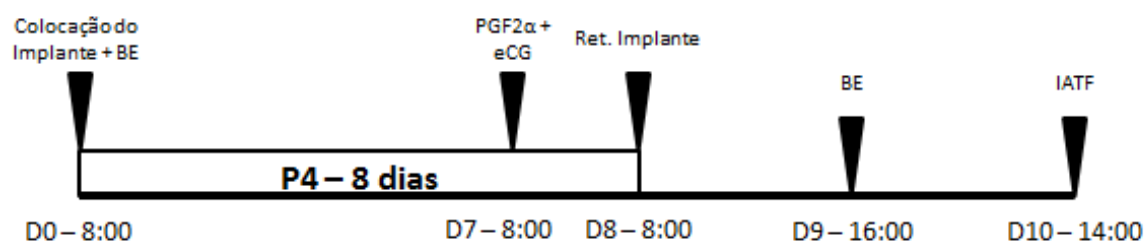


Fig. 1. Protocolo hormonal composto por P₄, BE, eCG e PGF2 α , utilizado em novilhas holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

Ultrassonografia e dinâmica folicular

Previamente ao início do protocolo, todas as fêmeas foram submetidas a exame ginecológico com auxílio da ultrassonografia transretal, utilizando aquelas fêmeas com presença de corpo lúteo. Além do D0 do protocolo, a atividade ovariana foi acompanhada no D4 para avaliação da emergência da nova onda folicular, no D8 (mensurar o folículo dominante), D9 para mensurar o folículo ovulatório e no dia da inseminação artificial (D10) para mensurar o diâmetro do folículo pré-ovulatório. Após a IA, as avaliações foram realizadas a cada 6 horas até a confirmação do momento da ovulação, caracterizada pelo tempo médio entre a última observação e o desaparecimento do folículo dominante, na imagem ultrassonográfica, em exame subsequente. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a IATF. Os exames ultrassonográficos foram feitos com auxílio do aparelho *DP 4900 Vet, Mindray®*, acoplado ao transdutor linear com frequência de 6,0 MHz. Durante o exame o transdutor era movimentado sobre a superfície dos ovários, e após a localização da imagem desejada, congelava-se para mensuração do diâmetro dos folículos (Fig. 2).

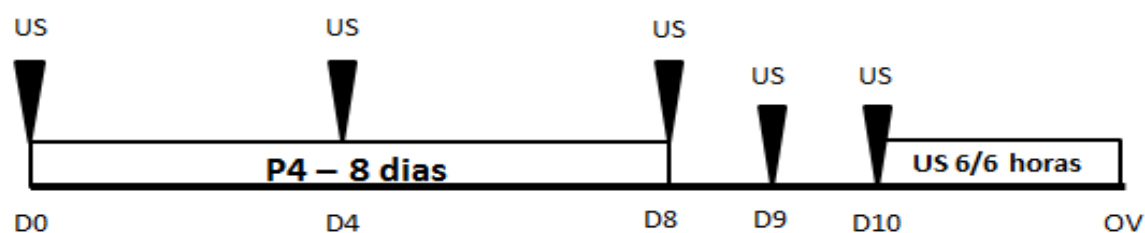


Fig. 2. Representação esquemática dos exames ultrassonográficos de novilhas holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

Análise estatística

Os dados foram analisados pelo programa estatístico SPSS 16.0 para testar a normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, empregando-se a análise de variância (ANOVA). Sendo evidenciada diferença estatística, foi aplicado o teste de Tukey para os contrastes entre as médias. Os resultados foram descritos apresentando-se as médias e erro padrão das médias (média \pm erro padrão da média), aplicando-se o nível de significância para P de 5% ($P > 0,05$) para rejeição da hipótese nula.

As variáveis, sincronização da onda, taxa de ovulação e taxa de concepção, que apresentam uma resposta binomial – sim ou não – foram analisadas pelo teste Qui-quadrado.

RESULTADOS

Todos os animais submetidos à IATF apresentaram a sincronização da nova onda de emergência folicular (100% vs. 100%) avaliadas no D4 do protocolo, resultando numa taxa de ovulação de 70% e 89% no G1 e G2, respectivamente ($P>0,05$). O tempo médio da retirada do dispositivo intravaginal e a ovulação não diferiram entre os grupos experimentais ($P=0,17$) sendo de $60,5\pm 2,65$ vs. $64,5\pm 0,33$ horas, assim como a taxa de concepção aos 30 dias que foi de 40% vs. 44,4% no G1 e G2, respectivamente ($P>0,05$; Tabela 1).

Tabela 1. Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre a sincronização da onda, taxa de ovulação, momento da ovulação e taxa de concepção de novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

Grupos	N	Sincronização da onda (%)	Taxa de Ovulação (%)	Momento da Ovulação (horas)	Taxa de Concepção (%)
G1	10	100 ^a	70 ^a	$60,5\pm 2,65^a$	40 ^a
G2	9	100 ^a	89 ^a	$64,5\pm 0,33^a$	44,4 ^a

^a letras idênticas na mesma coluna indicam não haver diferença estatística ($P>0,05$)

O diâmetro médio do folículo dominante no D9 do G1 ($13,5\pm 0,1$ mm) não diferiu ($P=0,17$) do G2 ($10,8\pm 1,7$ mm), assim como a média do diâmetro máximo do folículo dominante ($14,3\pm 1,5$ mm vs. $11,9\pm 0,86$ mm) e do diâmetro máximo do folículo ovulatório ($14,7\pm 0,74$ mm vs. $12,3\pm$ mm), porém a taxa de crescimento médio diário dos folículos nas novilhas do G1 ($1,6\pm 0,12$ mm/dia) que receberam dispositivos intravaginais com menor concentração de progesterona (0,75g) no início do tratamento hormonal, apresentaram maior taxa de crescimento folicular em relação ao G2 ($1,0\pm 0,18$ mm/dia; $P=0,02$) (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre a dinâmica folicular (Média \pm EPM) de novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

Grupos	N	Ø FD no D9 (mm)	Ø máx. FD (mm)	Ø máx. FO (mm)	Taxa de Crescimento (mm/dia)
G1	10	13,5 \pm 0,1 ^a	14,3 \pm 1,5 ^a	14,7 \pm 0,74 ^a	1,6 \pm 0,12 ^a
G2	9	10,8 \pm 1,7 ^a	11,9 \pm 0,86 ^a	12,3 \pm 1,37 ^a	1,0 \pm 0,18 ^b

^a letras idênticas na mesma coluna indicam não haver diferença estatística (P>0,05)

O diâmetro médio do folículo dominante no D9 entre as novilhas que ovularam do G1 foi 14,8 \pm 0,6 mm e no G2 11,2 \pm 1,6mm não se observando diferença entre os tratamentos (P=0,07), da mesma forma que também não se observou diferença entre novilhas que não ovularam do G1 (9,6 \pm 0,7 mm) e do G2 (7,7 \pm 0,03 mm)(P=0,42). Já ao se comparar os diâmetros médios dos folículos dominantes no D9 entre as novilhas que ovularam (14,8 \pm 0,6 mm) e as que não ovularam (9,6 \pm 0,7 mm) do G1, observou-se diferença (P<0,05), assim como no G2 (11,2 \pm 1,6 vs. 7,7 \pm 0,03 mm; Tabela 3).

Tabela 3. Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre o diâmetro do folículo dominante (D9) nas novilhas Holandesas púberes que ovularam e que não ovularam (Média \pm EPM) submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

Grupos	n	Ø FD no D9 das novilhas que ovularam (mm)	Ø FD no D9 das novilhas que não ovularam (mm)
G1	10	14,8 \pm 0,8 ^{a,A}	9,6 \pm 0,7 ^{a,B}
G2	9	11,2 \pm 2,1 ^{a,A}	7,7 \pm 0,03 ^{a,B}

^a letras minúsculas idênticas na mesma coluna indicam não haver diferença estatística (P>0,05)

^Aletras maiúsculas idênticas na mesma linha indicam não haver diferença estatística (P>0,05)

Entre as novilhas que conceberam do G1 (15 \pm 1,4mm) e do G2 (13,2 \pm 1,4mm) não foi evidenciada diferença sobre o diâmetro médio dos folículos dominantes no D9 (P>0,05), da mesma forma, ao se comparar o diâmetro médio das novilhas que não conceberam 12,1 \pm 2,4 vs 7,5 \pm 0,1 para G1 e G2, respectivamente também não se observou

diferença ($P=0,08$). Mas, ao se comparar as novilhas que conceberam com as que não conceberam do G2 ($13,2\pm 1,4$ mm vs. $7,5\pm 0,1$ mm) fica evidente o maior diâmetro médio do folículo apresentado pelas novilhas que conceberam ($P<0,05$; Tabela 4).

Tabela 4. Efeito de diferentes concentrações de progesterona (0,75g ou 1g) sobre o diâmetro do folículo dominante (D9) nas novilhas holandesas púberes que conceberam e que não conceberam (Média \pm EPM) submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

Grupos	N	Ø FD no D9 das novilhas que conceberam (mm)	Ø FD no D9 das novilhas que não conceberam (mm)
G1	10	$15,0\pm 1,4^{a,A}$	$12,1\pm 2,4^{a,A}$
G2	9	$13,2\pm 1,4^{a,A}$	$7,5\pm 0,1^{a,B}$

^a letras minúsculas idênticas na mesma coluna indicam não haver diferença estatística ($P>0,05$)

*letras maiúsculas idênticas na mesma linha indicam não haver diferença estatística ($P>0,05$)

A taxa de ovulação aumentou significativamente ($P<0,05$) em folículos maiores de 11 mm, mensurados no D9 (Fig. 3). No entanto, as taxas de concepção foram maiores quando os folículos se encontravam maiores que 8,1 mm, no D9. Folículos com diâmetros menores que 8 mm (mensurados no D9) apresentaram taxas de ovulação ao redor de 50% porém não houve concepção (Fig. 3).

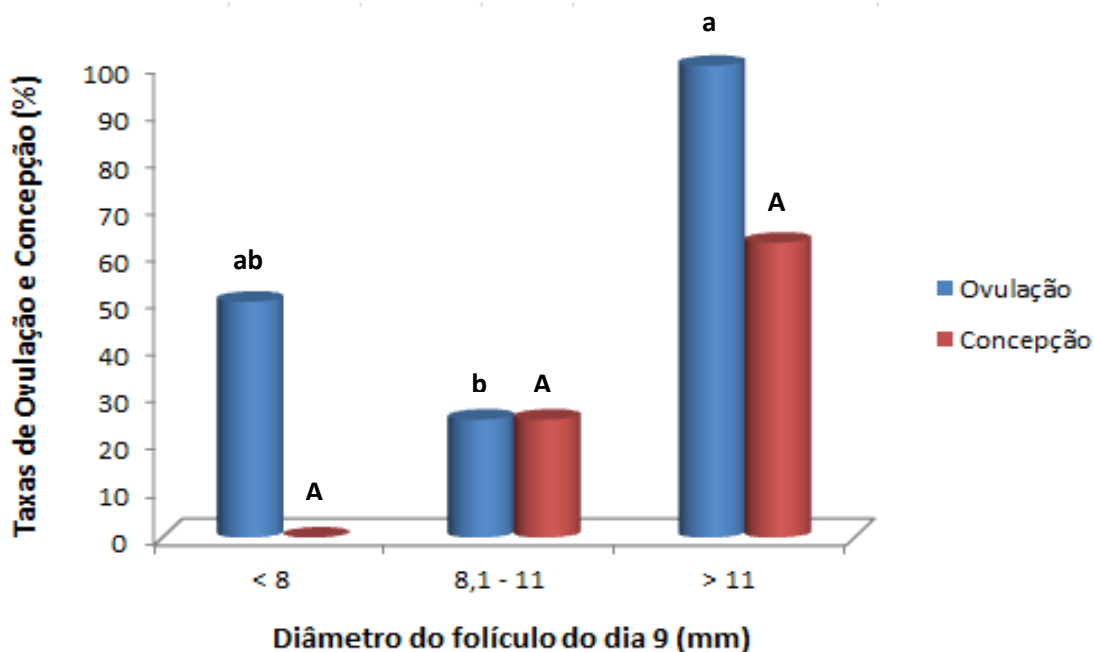


Figura 3. Taxas de ovulação e concepção de acordo com o diâmetro do folículo dominante no D9 em novilhas Holandesas púberes submetidas à IATF, São Bento do Una – PE, 2013.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a utilização de dispositivos intravaginais, contendo diferentes concentrações de P_4 (0,75g vs 1,0g) no início do protocolo (D0), não promoveu aumento significativo do diâmetro do folículo dominante e ovulatório, no entanto, o crescimento diário do folículo dos animais que receberam implante com menores níveis de P_4 (0,75g) foram significativamente maiores. Estes tratamentos não alteraram significativamente as taxas de sincronização do ciclo estral e ovulação, momento da ovulação e taxa de concepção, contrariando parcialmente a hipótese inicial deste trabalho. Por outro lado, maiores taxas de ovulação foram nas novilhas que apresentaram no D9 folículos maiores que 11 mm.

Ambos os tratamentos mostraram ser eficientes na sincronização da onda, ou seja, a capacidade de induzir a emergência da nova onda de crescimento folicular em novilhas Holandesas cíclicas. Tais achados corroboram aqueles relatados por outros estudos, nas quais utilizaram o P_4 e E_2 para sincronizar o desenvolvimento folicular em bovinos (CARVALHO, 2004; PERES, 2008; SOUZA, 2008; PEGORER, 2009; ALBUQUERQUE et al., 2013).

As taxas de sincronização, ovulação e concepção observadas nesse estudo, não foram influenciadas, de modo significativo, pelos dispositivos com diferentes concentrações de progesterona e estão dentro do esperado e descrito na literatura quando se trabalha com IATF, sendo superior ao encontrado por Pegorer (2009) em novilhas de corte cíclicas, onde observou taxas de ovulação e concepção para os animais que receberam implante intravaginal contendo 0,5 g e 1 g de P₄, com 67,6% vs. 77,1% e 30,2% vs. 25,7%, respectivamente. Já Souza (2008), em experimento com vacas Holandesas de alta produção observou taxa de ovulação de 84% nos animais tratados com eCG e 87,5% nos não tratados, e taxa de concepção de 29,1% 30,9%, respectivamente.

Por outro lado, Gimenes et al. (2009), estudando o efeito do tratamento com eCG sobre a formação do corpo lúteo de novilhas Nelore e Holandesa, observaram taxas de ovulação de 100% e 60% para novilhas Nelore com e sem eCG, respectivamente e de 80% e 100% para novilhas Holandesas.

Giroto et al. (2013) avaliaram a taxa de concepção em vacas *Bos indicus* lactantes com reutilização de dispositivos intravaginais de P₄ de 1g e único uso com implante de 0,55g (monodose) onde, não observaram diferença significativa na taxa de concepção entre os tratamentos, 56,2%, 64,1%, 59,2% e 60,8% para dispositivos de 1g. (novo, 2 uso e 3 uso) e monodose, respectivamente. Seguindo a mesma linha, Santin et al. (2013) avaliaram as diferenças no desenvolvimento folicular de vacas cíclicas Nelore, tratadas com dois dispositivos intravaginais 0,55g e 1g de P₄, onde obtiveram taxa de ovulação de 80% em ambos os grupos.

O resultado do estudo no que diz respeito à dinâmica folicular, evidenciou que as novilhas que receberam dispositivos intravaginais com menor concentração de P₄ (0,75g), apresentaram maiores crescimentos foliculares durante as avaliações em relação às novilhas que receberam dispositivos intravaginais com maior concentração de P₄ (1g).

Apesar de não se observar efeito significativo nos diâmetros médios dos folículos no D9, diâmetro máximo do FD e FO entre os grupos, fica evidente que os animais do G1 (0,75g) apresentaram maiores taxas de crescimento diário ($1,6 \pm 0,12$ mm), sendo 62,5% superior ao crescimento do G2. Tais achados são superiores aos encontrados por Pegorer (2009) em novilhas Nelore, onde as fêmeas que receberam dispositivos de P₄ com 0,55g apresentaram taxa de crescimento diário de $0,78 \pm 0,06$ mm/dia, enquanto as que receberam dispositivos com 1g tiveram um crescimento de $0,56 \pm 0,29$ mm/dia.

Já Utt et al. (2003) também obtiveram taxas de crescimento folicular diários menores (1,2 mm) em vacas Angus. Carvalho (2004) comparando os efeitos da aplicação de prostaglandina no dia da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (D0) com o grupo controle em novilhas Gir, Girolando ½ Hol. e Holandesa, relatou crescimentos diários inferiores ao apresentado por este estudo, 1,0±0,2 vs. 0,6±0,2, 1,4±0,1 vs. 1,2±0,2 e 1,4±0,1 vs. 0,9±0,1, respectivamente, mostrando que as fêmeas que foram expostas durante o protocolo de IATF a menores doses de P₄ apresentaram maiores taxas de crescimentos diários.

Batista et al. (2013), avaliando a dinâmica folicular em novilhas Holandesas e Nelore, utilizando o protocolo E₂/P₄ e sem eCG, obtiveram taxa de crescimento folicular diário de 1,4±0,1 vs 1,2±0,1 e 1,3±0,1 vs 1,1±0,1, para novilhas holandesas e Nelore sob a ingestão de alta e baixa matéria seca e energia, respectivamente.

A antecipação da aplicação no dia 7 da PGF_{2α} nesse estudo pode ter contribuído para o maior crescimento diário do folículo dominante, devido à diminuição da concentração de P₄ ao final do protocolo de IATF, pois altas concentrações de P₄ podem estar relacionadas à supressão da pulsatilidade de LH (SAVIO et al., 1993; GINTHER et al., 1996). Peres (2008) observou no seu estudo, que altas concentrações de P₄ no fim do protocolo prejudicaram os resultados de concepção, sincronização e prenhez à IATF em fêmeas Nelore e alegou que apesar de implicar maior manejo a aplicação de PGF_{2α} no dia 7, é importante em diminuir a concentração de P₄ no fim do protocolo em vacas Nelore.

Ginther et al. (1996), observaram que quando há diminuição na frequência dos pulsos de LH, há também uma diminuição na concentração média de LH e conseqüentemente, menor diâmetro do folículo dominante. Outro fato importante, foi a aplicação de 300 UI de eCG que pode ter contribuído para o bom crescimento diário dos folículos apresentados pelos animais desse estudo, pois o eCG exerce função de indutor de crescimento folicular se ligando a receptores de LH e FSH (MURPHY et al., 1991).

Outros estudos que utilizaram eCG no momento da retirada do implante intravaginal, evidenciaram aumento no crescimento folicular e maiores diâmetros do folículo ovulatório (SÁ FILHO et al., 2004), aumento da capacidade esteroideogênica do corpo lúteo (MARQUES et al., 2005) e conseqüentemente, possuindo maiores concentrações de progesterona plasmáticas durante o diestro pós-sincronização de estro.

É notório no presente estudo uma relação entre diâmetro do FD no D9 e as taxas de ovulação e concepção, corroborando os resultados da literatura em fêmeas de corte e leite

(CAVALIERI et al., 2003; CASTILHO et al., 2007; PERRY et al., 2007; PEREZ, 2008; CARVALHO et al., 2008).

Folículos com até 8 mm de diâmetro, mensurados no D9, apresentaram baixa taxa de ovulação (50%) e nenhuma concepção, folículos com diâmetro entre 8-11 mm apresentaram 25% de ovulação e 25% de concepção, por outro lado, os folículos com diâmetro maior que 11 mm, mensurados no D9, resultaram em altas taxas de ovulação (100%) e concepção (62,5%), corroborando Perry et al. (2007) que relataram que a indução da ovulação de folículos imaturos é indesejável em protocolos de IATF e que a capacidade ovulatória aumenta proporcionalmente com o aumento do diâmetro do folículo, até um certo limite.

Nett et al. (2002) relataram que folículos ovulatórios de maior diâmetro produzem maiores quantidades de estradiol que possibilitam o aumento da responsividade da hipófise ao GnRH pelo aumento de seus receptores ou por ação direta estimulando a secreção de LH (BARATTA et al., 2001). Pegorer (2009) cita que os folículos das fêmeas *Bos indicus*, adquirem capacidade ovulatória com diâmetros inferiores a *Bos taurus* nesse sentido, Carvalho (2004) constatou que novilhas *Bos indicus* apresentaram folículos ovulatórios de menor diâmetro do que novilhas *Bos indicus x Bos taurus* e *Bos taurus*.

Em experimento realizado por Gimenes et al. (2008), com novilhas Nelore, Gir e cruzadas (Nelore x Gir), relataram que as fêmeas tratadas com LH quando o folículo dominante atingiu diâmetro de 7,0 a 8,4 mm; 8,5 e 10,0 mm e acima de 10 mm, apresentaram taxas ovulatória de 33, 80 e 90%, respectivamente. Já Sartori et al. (2001), com vacas holandesas, verificaram que a capacidade ovulatória ocorre somente após os folículos alcançarem 10 mm de diâmetro.

Outra explicação plausível para a relação positiva entre diâmetro do FD e as taxas de ovulação e concepção, seria a ocorrência da lise prematura do corpo lúteo, onde de acordo com Vasconcelos et al. (2001), pequenos CL oriundos de pequenos folículos, possuem baixa capacidade de produzir progesterona, desta forma sendo incapazes de bloquear a produção de PGF_{2α} pelo endométrio.

No presente estudo não foi observada diferença ($P > 0,05$) na taxa de sincronização da onda folicular, taxa de ovulação, taxa de concepção e momento da ovulação em novilhas púberes Holandesas, porém os animais que receberam dispositivos intravaginais com menor concentração de progesterona ovularam mais precocemente em comparação as fêmeas que receberam dispositivos com maior concentração de P4, assim recomenda-se

que os animais deverão ser inseminados mais cedo em programas de IATF que utilizarem esse protocolo.

O diâmetro do folículo ovulatório e pré-ovulatório não diferiu entre os grupos, entretanto os animais que receberam dispositivo intravaginal com menor concentração de P₄ apresentaram maior taxa de crescimento folicular diário.

Em suma, a maioria dos resultados aponta um efeito benéfico da menor concentração de P₄ na IATF em novilhas Holandesas.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, J.P.; PEREIRA, M.H.C.; VASCONCELOS, J.L.M.; RODRIGUES, A.D.P.; WILTBANK, M.C. 2013. Increasing the interval between luteolysis and AI decreases pregnancy loss in lactating dairy cows submitted to E2/P4 TAI program. *Animal Reproduction*, v.10, n.3, p.457.

BARATTA, M.; WEST, L.A.; TURZILLO, A.M.; NETT, T.M. 2001. Activin modulates differential effects of estradiol on synthesis and secretion of follicle-stimulating hormone in ovine pituitary cells. *Biology Reproduction*, v.64, p.714-719.

BATISTA, E.O.S.; SALA, R.V.; ORTOLAN, M.D.D.V.; JESUS, E.F.; DEL VELLE, T.A.; MACEDO, G.G.; RENNO, F. P.; BARUSELLI, P.S. 2013. Ovarian and endocrinology responses in Taurus and Zebu heifers submitted to different nutrition challenges. *Animal Reproduction*, v.10, n.3, p.444.

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

BOLAMBA, D.; MATTON, P.; ESTRADA, R. et al. 1994. Ovarian follicular dynamics and relationship between ovarian types and serum concentrations of sex steroids and gonadotrophin in prepubertal gilts. *Animal Reproduction Science*, v.36, p.291-304.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; ROCHA JUNIOR, V.R.; CARVALHO, G.R. 2001. Ovarian follicular dynamics in crossbred Holstein-Zebu heifers. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.53, n.5, p.595-604.

BYERLEY, D. J.; STAIGMILLER, R. B.; BERARDINELLI, J. G.; SHORT, R. E. 1987. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. *Journal Animal Science*, v.65, p.645-650.

BROSTER, W.H.; BROSTER, V.J. 1998. Body score of dairy cows, *Journal Dairy Research*. v.65, p.155-173.

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

CARVALHO, J.B.P. 2004. Sincronização da ovulação com dispositivos intravaginais de progesterona (CIDR[®]) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus x Bos taurus* e *Bos taurus*. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP. 124p.

CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. 2008. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus x Bos Taurus*, and *Bos Taurus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.167-175.

CASTILHO, C.; GARCIA, J.M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G.P.; BRITO, L.F.C. 2007. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*, v.98, n.3, p.189-193.

EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D.; FARVER, T.;WEBSTER, G. 1989. A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.72, n.1, p.68-78.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES-JUNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS,

C.M.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. 2008. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.852-858.

GIMENES, L.U.; FANTINATO NETO, P.; RODRIGUEZ, C.L.V.; PIMENTEL, J.R.V.; KEHRLE, A.; NICHI, M.; BARUSELLI, P.S. 2009. Efeito da eCG sobre a formação do corpo lúteo de novilhas Nelore e Holandesas. *Anais XVIII Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, MG, p.355. (Resumo)

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

GIROTTI, R.W.; SANTOS, J.H.P.; SANTOS, F.A.; BOTTINO, M.P.; VIEIRA, L.M.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. 2013. Effect of single-use or re-used intravaginal progesterone devices on the pregnancy rate of lactating *Bos indicus* cows submitted to TAI. *Animal Reproduction*, v.10, n.3, p.483.

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

LAMB, G.C. 2003. Avaliação de protocolos de sincronização que utilizam implantes de progesterona. *Anais 7º Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos*. Uberlândia, MG, p.199-211. (Resumo)

MARQUES, M.O.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; FIGUEIREDO, T.B; SORIA G.F.; BARUSELLI, P.S. 2005. Efeito do tratamento com PGF_{2α} 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*, p.287.

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

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

MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. 1991. Equine chorionic gonadotropin. *Endocrine Reviews*, v.12, p.1305-1319.

PEGORER, M.F. 2009. Taxas de ovulação e prenhez em novilhas Nelore cíclicas após utilização de protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com diferentes concentrações de progesterona, associadas ou não a aplicação de eCG. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 89p.

PEREZ, R.F.G. 2008. Efeito da concentração pré e pós-ovulação de progesterona em protocolos de IATF em fêmeas Nelore. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 104p.

PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; ROBERTS, A.J.; MacNEIL, M.D.; GEARY, T.W. 2007. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifer. *Journal Animal Science*, v.85, p.684-689.

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

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

SANTIN, T.; MATURANA FILHO, M.; NAVES, J.R.; MORALES, J.K.; RAVAGNANI, G.M.; SILVA, J.C.V.; SOLTO, L.A.; MADUREIRA, E.H. 2013. Follicular development in cyclic Nelore cows treated with intravaginal progesterone device used three times or with single-use (single dose). *Animal Reproduction*, v.10, n.3, p.489.

SARTORI R, FRICKE PM, FERREIRA JCP, GINTHER OJ, WILTBANK MC. 2001. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology Reproduction*, v.65, p.1403-1409.

SAVIO, J.D.; BOLAND M.; ROCHE J.F. 1990. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.88, p.581-591.

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

SOUZA, A.H. 2008. Inseminação Artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP, 152p.

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

VASCONCELOS, J. L. M.; PURSLEY, J. R.; WILTBANK, M. C. 1994. Effects of synchromate B combined with Ngr. On follicular dynamics and time of ovulation. *Journal of Dairy Science*, v. 77 (Suppl. 1), p. 174.

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

6. APÊNDICE



Fig. 4. Grupo de novilhas holandesas púberes que participaram do estudo, Estação Experimental do IPA, São Bento do Una – PE.