

JOSÉ ROGÉRIO MOURA DE ALMEIDA NETO

**DINÂMICA OVARIANA EM VACAS MAGRAS COM ANESTRO E TAXA DE  
PRENHEZ COM IATF EM VACAS LEITEIRAS MESTIÇAS DE DIFERENTES  
ESCORES DE CONDIÇÃO CORPORAL**

Tese apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Medicina Veterinária, para  
obtenção do título de *Doctor  
Scientiae*.

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2013**

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

A447d  
2013

Almeida Neto, José Rogério Moura de, 1983-

Dinâmica ovariana em vacas magras com anestro e taxa de prenhez com IATF em vacas leiteiras mestiças de diferentes escores de condição corporal / José Rogério Moura de Almeida Neto. – Viçosa, MG, 2013.

xi, 62f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eduardo Paulino da Costa.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.44-62.

1. Bovino de leite - Reprodução. 2. Bovino de leite.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária.  
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.


CDD 22. ed. 636.2082

JOSÉ ROGÉRIO MOURA DE ALMEIDA NETO

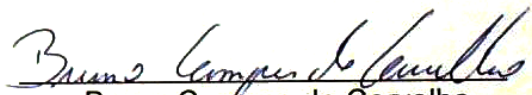
**DINÂMICA OVARIANA EM VACAS MAGRAS COM ANESTRO E TAXA DE  
PRENHEZ COM IATF EM VACAS LEITEIRAS MISTIÇAS DE DIFERENTES  
ESCORES DE CONDIÇÃO CORPORAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

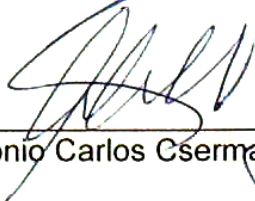
APROVADA: 31 de julho de 2013.



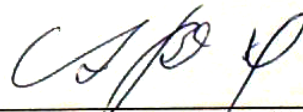
Ademir de Moraes Ferreira  
(Coorientador)



Bruno Campos de Carvalho  
(Coorientador)



Antônio Carlos Csermak Júnior



Antonio Bento Mâncio



Eduardo Paulino da Costa  
(Orientador)

## Dedico

Primeiramente a Deus, sem ele nada disso seria possível...

Aos meus Pais, que sempre me ajudaram, sempre que precisei estiveram do meu lado...

Aos meus Irmãos, por sempre estarem torcendo pelo nosso sucesso...

A minha Esposa que me ajudou desde o início...

A dois grandes mestres que eu tenho na vida o Professor Ademir e o Professor Eduardo...

MUITO OBRIGADO

“O homem nasceu para aprender, aprender tanto quanto a vida lhe permita”

Guimaraes Rosa

“É bom ter um objetivo nas jornadas que empreendemos; mas, no fim das contas, o que importa é a jornada em si”

Ursula Le Guin

“O primeiro passo na busca da verdade é a humildade. O segundo, a humildade. O terceiro, a humildade. E o último, a humildade. Naturalmente, isto não significa que a humildade seja a única virtude necessária para o encontro e gozo da verdade; mas se as demais virtudes não estiverem precedidas, acompanhadas e seguidas da humildade, a soberba abrirá caminho e destruirá suas boas intenções.”

Santo Agostinho

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por mais essa vitória, pela força concedida na realização dos meus sonhos.

À minha querida esposa Valesca, que apesar da distância, esteve sempre ao meu lado, apoiando-me e dando-me forças para a realização desse curso, além de me ajudar até na realização do experimento.

Agradecimento especial aos meus pais José Rogério e Maria de Fátima, que acreditaram no meu sonho e estiveram sempre ao meu lado, acompanhando-me a cada degrau superado rumo a esta realização.

Aos meus irmãos Rafael e Maria Elisa, que apesar da distância estão sempre torcendo por mim.

À Universidade Federal de Viçosa e ao departamento de Medicina Veterinária, pelo acolhimento para a realização de mais este curso.

Ao professor Eduardo Paulino da Costa, pela orientação, pelos ensinamentos e, principalmente, pela amizade.

Ao professor Ademir de Moraes Ferreira, pela orientação, pelos ensinamentos e, principalmente, pela amizade desde os tempos da graduação.

Aos membros da banca, Bruno Campos Carvalho, Antonio Bento Mâncio e ao Antonio Carlos Csermak Junior pela honrosa participação na defesa e pelas sugestões valiosas, que contribuíram para o engrandecimento deste trabalho.

A EMBRAPA GADO DE LEITE que nos permitiram desenvolver os trabalhos na Fazenda Experimental de Santa Mônica.

Aos Pequenos Produtores de leite, que são um estímulo a mais para continuar nesta estrada...

Ao Centro de Ensino Superior de Valença (CESVA) pelo apoio financeiro e técnico no desenvolvimento da Pós Graduação.

Aos amigos e colegas do curso de Pós-graduação: Rafael, Giancarlo, Gustavo, Emílio, pela agradável convivência, pela amizade e auxílios prestados.

À Rosi, secretária da Pós-graduação da Veterinária, pelo acolhimento, orientações e pela amizade construída ao longo do curso.

Se hoje comemoro mais uma conquista, esta se deve a vocês que estiveram ao meu lado em todos os momentos, que fizeram de meus sonhos seus próprios objetivos e de meus objetivos sua própria luta. Neste momento de alegria, no qual celebro o final de uma etapa da Pós-Graduação (Doutorado), agradeço a todos vocês que, pela amizade ou pelo simples convívio, me apontaram o caminho. A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, que, para mim, é mais que um trabalho e, sim, sonho, o meu muito obrigado.

## BIOGRAFIA

JOSÉ ROGÉRIO MOURA DE ALMEIDA NETO, filho de Jose Rogério Moura de Almeida Filho e Maria de Fátima de Almeida, nasceu na cidade de Valença, Rio de Janeiro, em 30 de junho de 1983.

Em fevereiro de 2000, ingressou no Faculdade de Medicina Veterinária de Valença -RJ., graduando-se em Medicina Veterinária, em julho de 2005.

Em outubro de 2006, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, a nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, tendo defendido dissertação em 06 de outubro de 2008.

Em agosto de 2009, iniciou o Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, tendo defendido dissertação julho de 2013.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xi
1.0. INTRODUÇÃO .....	01
2.0. REVISÃO DE LITERATURA.....	04
2.1. Bases fisiológicas do ciclo estral e função ovariana .....	04
2.2. Dinâmica do crescimento folicular ovariano .....	04
2.3. Controle do crescimento e do desenvolvimento folicular .....	05
2.4. Formação do corpo lúteo (luteogênese) .....	06
2.4.1. Alterações morfológicas.....	06
2.4.2. Alterações bioquímicas e endócrinas.....	08
2.4.3. Características morfológicas do corpo lúteo .....	09
2.4.4. Produção de progesterona.....	10
2.5. Considerações gerais sobre a hormonioterapia para o anestro bovino.....	11
2.6. Classificação do anestro em bovinos.....	12
2.7. Relação da condição corporal inferior com o diâmetro folicular ovariano.....	15
2.8. Interação nutrição-reprodução em vacas.....	17
2.9. Restabelecimento da função reprodutiva no pós-parto.....	18
2.10. Ação de hormônios e metabólitos sobre a reprodução.....	20
2.10.1. Progesterona e Estradiol.....	20
2.10.2. Glicose e Insulina.....	21
2.10.3. IGF/Somatomedina.....	22
2.10.4. Leptina.....	22
2.10.5. Colesterol.....	23
2.10.6. Ácidos graxos não esterificados (AGNE).....	23
2.11. Tratamentos hormonais para anestro em bovinos.....	24
2.11.1. Protocolo ovsynch para fêmeas bovina em anestro	24
2.11.2. Protocolos com implantes de progestágenos.....	25

3.0. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1. Localização.....	28
3.2. Delineamento Experimental.....	28
3.2.1. Experimento I – Dinâmica ovariana em vacas magras na condição de anestro .....	29
3.2.2. Experimento II – Indução da ovulação em vacas com diferentes graus de escore de condição corporal.....	30
3.3. Análise estatística .....	32
4.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	33
4.1. Experimento I – Dinâmica ovariana em vacas magras na condição de anestro.....	33
4.2. Experimento II – Indução da ovulação em vacas com diferentes graus de escore de condição corporal.....	36
5.0. CONCLUSÕES.....	43
6.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

## RESUMO

ALMEIDA NETO, José Rogério Moura de, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2013. **Dinâmica ovariana em vacas magras com anestro e taxa de prenhez com IATF em vacas leiteiras mestiças de diferentes escores de condição corporal.** Orientador: Eduardo Paulino da Costa. Coorientadores: Ademir de Moraes Ferreira, José Domingos Guimarães e Bruno Campos de Carvalho.

Os objetivos do presente trabalho, foram avaliar a resposta de vacas mestiças (Holândes X Zebu) de diferentes escores de condição corporal à indução hormonal da ciclicidade ovariana, além de verificar a dinâmica ovariana de vacas magras em anestro. Os animais foram classificados quanto ao escore de condição corporal, segundo a escala de 1 a 5. Experimento I : Foram realizados os exames da dinâmica folicular durante 21 dias em 18 vacas lactantes em anestro, com ECC menor que 2,5. Verificou-se que a dinâmica folicular das vacas magras avaliadas apresentou padrão de dois ou três ciclos de crescimento folicular, (23,3 e 77,7% para ciclos com duas e três ondas, respectivamente). Experimento II : Foram utilizadas 186 vacas em lactação, mestiças Holandês X Zebu, com diferentes graus de sangue, com média de  $79,1 \pm 29,3$  dias de pós-parto. As vacas foram agrupadas em três grupos experimentais (G1, G2 e G3) de acordo com o grau do Escore de Condição Corporal (ECC). No presente experimento, o ECC das vacas apresentou correlação positiva e elevada com os diâmetros foliculares na colocação ( $P=0,0001$ ; 0,85) ou na retirada do implante ( $P=0,0001$ ; 0,75). A área luteal, sete dias após o estro, foi de 1,5; 2,5 e 2,9  $\text{cm}^2$ , para os grupos G1, G2 e G3. No presente experimento o ECC apresentou correlação positiva e elevada com as taxas de ovulação ( $P=0,0001$ ; 0,55) e prenhez ( $P=0,0001$ ; 0,70). Vacas com ECC igual ou superior a 2,5 (escala de 1 a 5) apresentaram maior taxa de ovulação ( $P<0,05$ ) e taxa de prenhez ( $P<0,05$ ), em relação às vacas com ECC menor que 2,5. Os resultados encontrados no presente experimento permitem concluir que a ultrassonografia é importante para a seleção de animais com baixo ECC, visando o uso de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo.

## ABSTRACT

ALMEIDA NETO, José Rogério Moura de, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2013. **Ovarian dynamics in lean cows under anestrus and the pregnancy rate with IATF in crossbred dairy cows showing different body condition scores.** Adviser: Eduardo Paulino da Costa. Coauthors: Ademir de Moraes Ferreira, José Domingos Guimarães and Bruno Campos de Carvalho.

This study was carried out to evaluate the response obtained from crossbred cows (Holstein x Zebu) presenting different body condition scores for hormonal induction of the ovarian cyclicity as well as to verify the ovarian dynamics of the lean anestrous cows. Experiment I : During 21 days, the follicular dynamics tests were performed in 18 lactating cows under anestrus, from which the ECC was lower than 2.5. No animal showed estrus, ovulation and follicular luteinization during evaluation of the follicular dynamics, therefore showing all cows to be under anestrus. It was found the follicular dynamics of the lean cows under evaluation to present a pattern with two or three cycles of follicular growth (23.3 and 77.7% for cycles with two and three waves, respectively). Experiment II : One hundred eighty six lactating cows Holstein X Zebu with different blood degrees. The cows were grouped into three experimental groups ( G1 , G2 and G3) according to degree of the Body Condition Score (ECC). In the present experiment, the cows' ECC showed high positive correlation with the follicular diameters at placement (P=0.0001; 0.85 ) or at implant removal ( P = 0.0001 , 0.75 .) At seven days after estrus, the luteal was 1.5 , 2.5 and 2.9 cm<sup>2</sup> for groups G1 , G2 and G3 respectively. In the present experiment, ECC presented high and positive correlation with ovulation rate ( P = 0.0001; 0.55 ) and pregnancy rate (P=0.0001 ; 0.70 ). The cows with ECC equal or higher than 2.5 (scale 1 to 5) showed higher ovulation rate (P < 0.05) and pregnancy rate (P <0.05 ), as compared to cows with ECC lower than 2.5. In this study, it was observed the ovulation rate to be 53.6 %, 72.1% and 79.6 % for groups G1, G2 and G3 respectively, after hormonal therapy. The result of the group G1 was lower ( P < 0.05 ) than those observed in groups G2 and G3, which were similar (P > 0,05). According to results, the animals of the group G1 presented lower pregnancy rates at IATF , therefore highlighting the importance of the ECC on reproductive " status " of the dairy cattle. The results of this study suggest the ultrasound to be important for selection of the animals with low ECC, as targeting the use of protocols for fixed-time artificial insemination.

## 1.0. INTRODUÇÃO

No Brasil, a importância social e econômica do leite é inquestionável. Diante disto, é constante a busca de um sistema de produção economicamente eficiente. Atualmente, percebe-se uma grande tendência para a adoção de sistemas de produção de leite a pasto com fêmeas bovinas mestiças (Holandês x Zebu), visando reduzir o uso de concentrado e, conseqüentemente, o custo de produção. Assim, pesquisas com animais mestiços atendem a um número expressivo de produtores.

A pecuária bovina leiteira teve nos últimos anos, um acentuado crescimento na produção, aumentando de 14,4 bilhões em 1990 para mais 32,0 bilhões de litros/ano em 2012. Apesar do grande incremento na produção de leite no país, a produtividade não teve um aumento significativo, aumentando de 759 kg/lactação em 1990 para 1.382 kg/vaca/ano em 2012, continuando muito inferior à Argentina (3.918 kg) e aos países desenvolvidos, onde a média de produção é maior que 5.000 kg/lactação (IBGE, 2013).

A cadeia agroindustrial do leite é reconhecida como uma das mais importantes do agronegócio nacional sob a ótica social e econômica, estando presente em todo o território nacional com papel relevante no suprimento de alimentos, na geração de empregos e de renda para a população. Neste contexto, o agronegócio vem impulsionando o crescimento do Produto Interno Bruto (PIB) do país, representando quase 25% do PIB Nacional em 2012 (CEPEA/ESALQ, 2013).

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, contando com aproximadamente 212 milhões de animais, dos quais quase 23 são vacas leiteiras, pertencentes a 1,3 milhões de produtores. Estas matrizes produziram cerca de 32 bilhões de litros de leite em 2012, colocando o país em terceiro lugar no ranking mundial de produção (IBGE, 2012). Contudo, a pecuária leiteira nacional ainda é caracterizada pela baixa produtividade dos rebanhos, visto que o aumento do volume de leite produzido ao longo dos anos ocorreu, em grande parte, devido ao aumento do número de vacas ordenhadas e não por melhoria na produtividade, embora esta tenha tido um pequeno aumento na última década (Gomes, 2001).

Em qualquer sistema de produção de leite adotado, a frequência de partos nos rebanhos é o fator de maior importância para a eficiência da atividade, pelo seu efeito direto na produção de leite e de bezerros. Assim, o atraso na concepção de uma fêmea bovina aumenta o custo de produção e afeta o desempenho econômico. Neste contexto, o anestro é um fator de extrema importância. Esta condição é definida como a falta de crescimento folicular ou falha na ovulação, independente da causa. Trata-se de uma condição de aciclicidade ovariana (anovulação) sem manifestação de estro (Montiel et al., 2005; Peter et al., 2009). Segundo Peter et al. (2009), o anestro pode ser indicativo de condições sub-ótimas de manejo (nutrição inadequada no periparto e condição corporal inferior) ou condições patológicas (doenças crônicas debilitantes ou doenças de ovários e útero).

O anestro é o principal fator determinante do atraso na concepção em bovinos da pecuária nacional, tendo em vista a grande quantidade de vacas magras (subnutridas) com ovários inativos. Assim, é responsável pelo país estar deixando de produzir cerca de 15 bilhões de litros de leite/ano com os mesmos rebanhos e animais existentes, em razão do aumento do Intervalo de Partos (IP), sem contar a redução expressiva no número de bezerros nascidos.

Tem sido comum na literatura citações sobre resultados positivos ou satisfatórios de tratamento hormonal para o anestro bovino (Thompson et al., 1999; Wiltbank et al., 2004; Hanlon et al., 2005). Estas informações estão sendo largamente difundidas no Brasil, induzindo muitos Médicos Veterinários ou mesmo produtores a utilizarem os referidos tratamentos, quase sempre sem o resultado desejado.

Neste contexto, quase 50% das inseminações artificiais realizadas no País foram por meio de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) (ASBIA, 2010). É importante ressaltar que, na maioria das pesquisas realizadas em países desenvolvidos, é usado tratamento hormonal para animais em anestro em vacas com boa condição corporal. Estes animais, portanto, são capazes de responder aos hormônios aplicados e voltam a ciclar. Ao contrário, no Brasil ocorre predominantemente em vacas magras, provavelmente sem folículos de tamanho capaz de responder aos hormônios (Ferreira, 2010).

Sabe-se que alimentação adequada é a base para a recuperação da atividade ovariana luteal cíclica nos animais magros em anestro (Ferreira et al.,

1999). Entretanto, os efeitos de hormônios sobre a atividade ovariana é um dos temas mais pesquisados atualmente. Assim, muitas informações não estão disponíveis sobre o tipo de anestro predominante em bovinos no Brasil e respostas para estas e outras indagações constituem os objetivos do presente trabalho:

⇒ As ondas foliculares (OFs) estão realmente presentes? Bossis et al. (2000) afirmam que vacas em anestro pós-parto e mesmo após longo tempo de paridas apresentam OFs. Será verdadeira esta afirmação para vacas magras em anestro?

⇒ Caso as OFs estejam realmente presentes, até que diâmetro os folículos das mesmas desenvolvem-se?

⇒ Os folículos neste tipo de anestro podem ser detectados pela ultrassonografia? Em caso negativo seria correta a denominação de ovários pequenos, duros e lisos (PDL) geralmente atribuída às vacas magras examinadas por palpação transretal?

⇒ Dependendo do tamanho que os folículos atingem, seriam responsivos a algum dos diferentes tratamentos hormonais preconizados?

Obtidas as informações descritas, tem-se como comparar com mais exatidão o tipos de anestros predominantes no Brasil com aqueles em que são descritos resultados positivos ou satisfatórios via tratamentos hormonais, em diversos trabalhos executados no exterior. Não se encontra na literatura um estudo mais detalhado sobre as reais condições ovarianas do anestro provocado por subnutrição, de grande importância econômica no Brasil, cujos resultados poderão fornecer subsídios para futuras pesquisas correlacionadas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Bases fisiológicas do ciclo estral e função ovariana

Os bovinos são animais poliéstricos anuais (Hafez & Hafez, 2004), ou seja, apresentam vários ciclos estrais ao longo do ano. Ciclo estral é o conjunto de fenômenos ocorridos entre dois estros sucessivos de um mesmo animal. Em fêmeas bovinas o ciclo estral varia de 18 a 24 dias, com intervalos médios de 21 (Ferreira, 2010).

### 2.2. Dinâmica do crescimento folicular ovariano

O processo de foliculogênese compreende dois estágios, independentes de gonadotrofinas no início e dependentes após determinado diâmetro dos folículos, e pode ser dividida em três fases: *recrutamento*; *seleção* e *dominância* (Driancourt, 1991; Ireland et al., 2000).

O padrão de crescimento folicular nos bovinos ocorre em forma de ondas, onde são recrutados cerca de cinco a 10 folículos em cada ovário (Kastelic, 1994). Um dos folículos recrutados cresce rapidamente (seleção e dominância), enquanto os demais iniciam um processo de atresia (folículos subordinados). O folículo dominante permanece estático por alguns dias, e ao regredir, possibilita o surgimento de uma nova onda de crescimento folicular. Se a fase de dominância coincidir com a regressão do corpo lúteo, o folículo atingirá o estágio pré-ovulatório e provavelmente ovulará (Gong e Webb, 1996a).

Normalmente, os ciclos estrais de vacas e novilhas compreendem duas (Ginther et al., 1989; Figueiredo et al., 1995) a três (Sirois e Fortune, 1988; Bo et al., 1993) ondas de crescimento folicular. Para os ciclos de duas ondas, o primeiro folículo dominante é anovulatório e o segundo, ovulatório. No caso de três ondas, apenas o último folículo dominante é ovulatório. O surgimento das ondas de crescimento folicular pode ser detectado nos dias zero (dia da ovulação) e 10 ou zero, nove e 16, para os ciclos com duas e três ondas, respectivamente (Ginther et al., 1989). O número de ondas por ciclo estral

parece estar associado com o comprimento do ciclo e com a duração da fase luteínica (Fortune,1993). Isto pode ser demonstrado pelo surgimento de novas ondas de crescimento folicular, quando se prolonga a fase luteínica pela administração de progesterona exógena (Fortune et al., 1991).

### **2.3. Controle do crescimento e do desenvolvimento folicular**

O eixo hipotálamo-hipófise-ovário, por meio de suas gonadotrofinas, é fundamental na regulação do desenvolvimento folicular. Todavia, fatores de crescimento como: IFG-I (fator de crescimento semelhante a insulina), EGF (fator de crescimento epidermal), FGF (fator de crescimento de fibroblastos), TGF $\alpha$  e TGF $\beta$  (fator modificador do crescimento), além da inibina e ativina estão relacionados ao controle deste desenvolvimento (Webb & Armstrong, 1998; Hanzen et al., 2000).

O FSH e o LH são os reguladores primários, porém, os estágios iniciais da foliculogênese não são dependentes de gonadotrofinas. O primeiro, é importante para o recrutamento folicular e o segundo, está envolvido na seleção do folículo dominante (Driancourt,1991; Webb & Armstrong, 1998).

A seleção folicular é dada pela produção de substâncias que diminuem a sensibilidade ao FSH, ou pela redução da concentração deste hormônio a um nível insuficiente para manter o desenvolvimento dos folículos menores, mas capaz de manter o crescimento do maior folículo. O folículo dominante produz fatores autócrinos (IGF-I e TGF $\beta$ ) que o torna mais sensível às menores concentrações de FSH, podendo chegar até a ovulação. Entretanto, a atividade autócrina (EGF, TGF $\alpha$ , FGF) dos folículos subordinados os impossibilita de crescerem sob baixas concentrações de FSH, tornando-os atrésicos (Driancourt,1991).

A dominância folicular pode ser morfológica e funcional. Todavia, nem sempre o maior folículo consegue dominar os menores e impedir o surgimento de uma nova onda de crescimento folicular (Fortune, 1993). As ondas aparecem logo após haver um aumento nas concentrações periféricas de FSH (Gong e Webb,1996).

Os esteróides ovarianos e as proteínas foliculares são considerados fatores controladores da foliculogênese, agindo em feed-back para a secreção de gonadotrofinas. Normalmente o estradiol e a ativina promovem o crescimento e diferenciação folicular, prevenindo a luteinização precoce dos folículos, enquanto os andrógenos, progesterona, inibina e folistatina atuam contrariamente (Findlay et al., 1996). A produção e a proporção de esteróides ovarianos são importantes na determinação da integridade ou atresia folicular. As elevadas concentrações de estradiol indicam normalidade dos folículos em crescimento. A alteração na razão estrógeno:andrógeno relaciona-se com a atresia folicular.

O hormônio de crescimento (GH), a insulina e o IGF-I, podem afetar a função ovariana por ação direta sobre as células tecais e da granulosa, onde amplificam a ação hormonal das gonadotrofinas (Adashi, 1992; Webb & Armstrong, 1998), sem contudo ocorrer aumento nas concentrações plasmáticas (Gong et al., 1991) e no número de receptores ovarianos para estas gonadotropinas (Gong et al., 1991; 1993a; Chalupa et al., 1997; Webb & Armstrong, 1998).

## **2.4. Formação do corpo lúteo (luteogênese)**

O corpo lúteo nas fêmeas bovinas é a principal fonte de progesterona circulante, e a função luteal é responsável pela duração e regularidade dos ciclos estrais, número de ondas de crescimento folicular, controle da ocorrência de ovulações e manutenção da gestação (Schams, 1996). O corpo lúteo é uma glândula endócrina temporária que funciona durante o diestro nos animais com AOLC ou durante a gestação (González, 2002a). O controle de sua função envolve interações endócrinas dentro do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, participação de fatores moduladores com ação parácrina e autócrina, e a produção de PGF<sub>2</sub> $\alpha$  endometrial (Schams, 1996).

### **2.4.1. Alterações morfológicas**

O processo de luteinização envolve a transformação de um folículo pré-ovulatório em uma estrutura altamente vascularizada, capaz de secretar grande

quantidade de progesterona (Smith *et al.*, 1994). Este processo envolve extenso remodelamento tecidual semelhante ao observado nos processos cicatriciais e em neoplasias, caracterizado por hiperplasia, hipertrofia e migração celular, e por intensa angiogênese, com migração e proliferação de células endoteliais e desenvolvimento de rede capilar (Luck & Zhao, 1995). A preparação para a formação do tecido luteal e produção de progesterona se inicia antes da ovulação e independe desta. Folículos terciários e cistos foliculares podem sofrer luteinização sem que ocorra ruptura de sua parede (Westfahl, 1993). O processo final de maturação folicular é importante para o posterior desenvolvimento do corpo lúteo (Parkinson *et al.*, 1994).

Após a descarga de LH, as células foliculares passam por modificações morfológicas, endócrinas e bioquímicas associadas à luteinização (Smith *et al.*, 1994). As células da granulosa sofrem hipertrofia, dissociação e retração para a base do folículo e as células do *cumulus* sofrem expansão. As células da teca sofrem hiperplasia, dissociação, migração para a cavidade folicular e dispersão entre células da granulosa (Niswender *et al.*, 1994). As alterações vasculares na teca interna podem ser importantes no aumento do aporte de LH para as células da granulosa (Smith *et al.*, 1994). A congestão e isquemia alternada provocam rompimento de vasos, dando início à angiogênese.

Após a ovulação ocorre o colapso do folículo ovulatório e a invasão de fibroblastos, células endoteliais e células da teca interna. Observa-se um aumento na taxa de proliferação celular nas células da teca, fibroblastos e células endoteliais, mas não nas células da granulosa (Smith *et al.*, 1994). O rompimento de capilares da teca resulta em hemorragia, com formação do coágulo (corpo hemorrágico), que serve de matriz para proliferação das células da parede folicular. A angiogênese resulta no estabelecimento de rede microvascular no corpo lúteo em desenvolvimento. A formação desta rede ocorre sob estímulo de vários fatores angiogênicos que estimulam a proliferação e migração das células endoteliais (Espey, 1994; Schams, 1996).

O corpo lúteo em desenvolvimento pode ser identificado de um a cinco dias após a ovulação, dependendo da técnica utilizada e da raça das fêmeas avaliadas (Tom *et al.*, 1998; Viana *et al.*, 1998b). O volume de tecido luteal aumenta progressivamente até em torno do sétimo dia do ciclo estral, permanecendo relativamente estável ao longo do diestro (Kastelic *et al.*, 1990;

Viana et al., 1998b). O crescimento do corpo lúteo reflete o processo de hipertrofia das células luteais grandes e hiperplasia das células luteais pequenas, responsáveis, respectivamente, por 40% e 20% do volume total do corpo lúteo (Wiltbank, 1994). Cavidades luteais são normalmente observadas em 37 a 77% dos corpos lúteos (Viana et al., 1998a), podendo ser originadas de uma ocupação incompleta da cavidade folicular pelas células em processo de luteinização (Tom et al., 1998).

#### **2.4.2. Alterações bioquímicas e endócrinas**

A onda pré-ovulatória de LH induz alterações na expressão e regulação das enzimas envolvidas na esteroidogênese (Espey, 1994). A expressão e atividade das enzimas relacionadas à conversão do colesterol em progesterona aumentam, inclusive nas células originadas da granulosa. Por outro lado, as enzimas envolvidas na conversão de progesterona em andrógenos e destes, em estrógenos, têm sua expressão rapidamente reduzida com a luteinização, resultando em uma produção praticamente nula de andrógenos e estradiol 17 $\beta$  pelo corpo lúteo (Smith et al., 1994).

A concentração plasmática de progesterona é normalmente baixa durante o estro (abaixo de 1ng/mL), mas aumenta progressivamente, refletindo as alterações na esteroidogênese luteal. O pico na produção de progesterona ocorre na metade do período do diestro (Parkinson et al., 1994; Figueiredo et al., 1997). Como o volume do corpo lúteo atinge seu valor máximo antes da concentração máxima de progesterona, a variação na produção desta, observada após o sétimo dia do ciclo, parece ser decorrente da maturação funcional do corpo lúteo e não do aumento na massa de tecido luteal (Viana et al., 1998). A concentração de progesterona plasmática é virtualmente indetectável logo depois da ovulação, mas aumenta gradualmente a partir do terceiro dia do ciclo, mantendo-se elevada durante 12 dias (González, 2002a).

A secreção de inibina, característica do folículo pré-ovulatório, é reduzida após ovulação, enquanto a ocitocina começa a ser produzida e armazenada em grânulos nas células originadas da granulosa, sendo um importante produto de secreção do corpo lúteo cíclico (Smith et al., 1994), e de

fundamental importância no desencadeamento do mecanismo luteolítico no ciclo estral normal.

### **2.4.3. Características morfológicas do corpo lúteo**

O corpo lúteo é constituído por um conjunto de células heterogêneas com características morfológicas, endócrinas e bioquímicas distintas. Duas populações de células podem ser caracterizadas em bovinos, com capacidade esteroidogênica (parenquimais), que são as *células luteais grandes e pequenas* (Parkinson *et al.*, 1994). Estas células derivam, respectivamente, das células das camadas foliculares da granulosa e da teca (Smith *et al.*, 1994).

As células luteais grandes são esféricas, com 22 a 50µm de diâmetro, e apresentam grande quantidade de organelas e grânulos secretórios (ocitocina) e estão relacionadas à alta capacidade esteroidogênica e de síntese de proteínas. Elas são responsáveis pela maior parte (80%) da produção basal de progesterona, porém apresentam poucos receptores e baixa resposta à estimulação pelo LH (Parkinson *et al.*, 1994; Wiltbank, 1994). Estas células são também responsáveis pela secreção de ocitocina e constituem o sítio primário de resposta à PGF2α e ao estrógeno (Wiltbank *et al.*, 1995a), representando 40% do volume do corpo lúteo, mas apenas 10% do total das células. As células luteais pequenas têm 12 a 22 µm de diâmetro, participam pouco na produção basal de progesterona, mas apresentam um maior número de receptores e respondem rapidamente à estimulação pelo LH, com aumento na produção de progesterona, representando 20% do volume do corpo lúteo e 25% do total de células (Niswender *et al.*, 1994; Wiltbank, 1994).

Sob ação do LH parte das células luteais pequenas poderia ser convertida em células luteais grandes. Os fibroblastos poderiam formar células luteais pequenas, funcionando como reserva destas (Smith *et al.*, 1994). As células luteais grandes e pequenas atuam de maneira sinérgica na produção de progesterona e podem interagir com as células não esteroidogênicas, por meio da produção local de hormônios, fatores de crescimento e citocinas, no controle do crescimento e função luteal (Wiltbank *et al.*, 1995a).

#### 2.4.4. Produção de progesterona

Os ovários da vaca são a principal fonte de progesterona encontrada no sangue periférico. Após o período de luteogênese, a presença de um corpo lúteo funcional determina a manutenção de valores plasmáticos de progesterona elevados durante todo o diestro, até a ocorrência da luteólise natural, quando a progesterona retorna a concentrações basais (Niswender *et al.*, 1994). Nesta fase luteal (quatro a 17 dias), o corpo lúteo secreta significativa quantidade de progesterona, que geralmente excede a concentração de 1ng/mL no dia quatro do ciclo estral (Wiltbank & Niswender, 1992; Gutierrez *et al.*, 1994; Youngquist, 1997; Mapletoft *et al.*, 2000 e Wiltbank *et al.*, 2000).

Tanto as células luteais pequenas quanto as grandes atuam na produção de progesterona. A produção total depende da eficiência na síntese pelas células esteroidogênicas e na taxa de liberação na corrente sanguínea (Kappel *et al.*, 1984). O fornecimento de dietas hiperlipídicas apresenta resultados inconstantes, induzindo (Staples *et al.*, 1998) ou não (Carr *et al.*, 1994) aumento na produção de progesterona pelo tecido luteal. Parte do efeito observado na suplementação lipídica pode ser devida apenas à redução no balanço energético negativo (Staples *et al.*, 1998).

O LH estimula a função esteroidogênica, particularmente nas células luteais pequenas, resultando em aumento na produção de progesterona (Wiltbank, 1994). Parte da produção de progesterona independe do estímulo pelo LH, principalmente nas células luteais grandes, responsáveis pela maior parte da esteroidogênese basal. Outros fatores estão envolvidos na regulação da produção de progesterona, como a ocitocina, PGE<sub>2</sub>, insulina, fatores de crescimento e GH (Del Vecchio *et al.*, 1996).

O balanço energético negativo reduz a frequência dos pulsos de LH e a produção de progesterona (Ferguson, 1996), mas não a duração da fase luteal em vacas e novilhas de raças leiteiras (Villa-Godoy *et al.*, 1988). A redução na produção de progesterona pode afetar a regularidade dos ciclos estrais, a concepção e a manutenção da gestação (Ferguson, 1996).

## **2.5. Considerações gerais sobre a hormonioterapia para o anestro bovino**

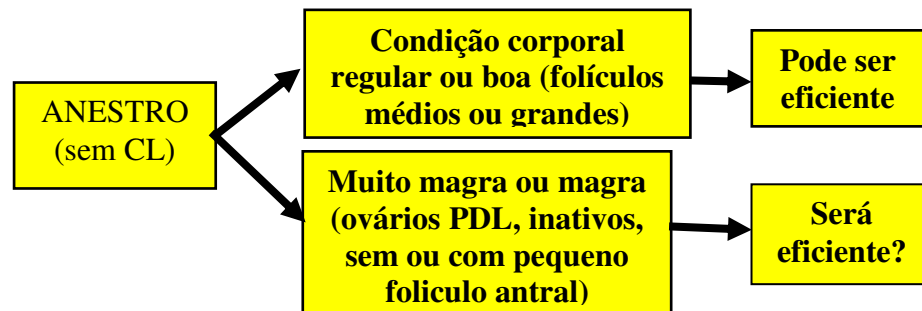
Todas as pesquisas com animais em anestro que respondem a tratamento hormonal (indução de ovulação e gestação) deveriam conter o escore de condição corporal (ECC) dos animais, o que não ocorre na totalidade dos trabalhos. Na maioria das pesquisas não são incluídos animais de baixo ECC. Apesar disto, a taxa média de gestação obtida é ainda relativamente baixa (30-40%), reforçando a importância do conhecimento do ECC daqueles animais que ficaram prenhes (Ferreira, 2010).

Thatcher et al. (2004) e Wiltbank et al. (2004) afirmam que o anestro é um problema reprodutivo que não pode ser resolvido pelos sistemas de sincronização conhecidos ou existentes, dependendo sim de um ótimo manejo nutricional, um mínimo de conforto e de um bom programa de saúde. Como a maioria dos casos de anestro no Brasil é devida à subnutrição (vacas magras ou muito magras), é provável que as respostas com tratamentos hormonais sejam insatisfatórias ou mínimas (Ferreira, 2010).

Vários autores citam diferentes tratamentos hormonais para anestro em bovinos, mas a quase totalidade destes trabalhos está relacionada com uma condição denominada anovulatória, definida por Wiltbank et al. (2004) como aquela em que os animais não ciclam, mas apresentam folículos grandes nos ovários. Diferenciam esta condição anovulatória do anestro, considerando que neste caso as vacas acíclicas apresentam folículos pequenos ou ausentes nos ovários, o que quase sempre está associado ao baixo ECC do animal.

Em qualquer tratamento hormonal para anestro bovino é importante o ECC do animal tratado, pois este tem grande influência na eficiência dos tratamentos (Ferreira, 2010). São considerados em anestro todos os animais sem CL nos ovários, sinal de que ainda não ovularam, e esta condição tanto pode estar presente em bovinos muito magros ou magros (sem folículo antral), como também em bovinos de ECC moderado (com folículos médios ou grandes), até próximas de ciclar, como se verifica na Figura 1. Destas e outras condições poderá depender a eficiência ou não do tratamento, pois os resultados com tratamentos hormonais devem ser bem mais eficientes neste último caso do que em animais magros com ovários inativos (Ferreira, 2010).

Figura 1. Possível eficiência de tratamentos hormonais para anestro de bovinos, em função da condição corporal do animal (Ferreira, 2010).

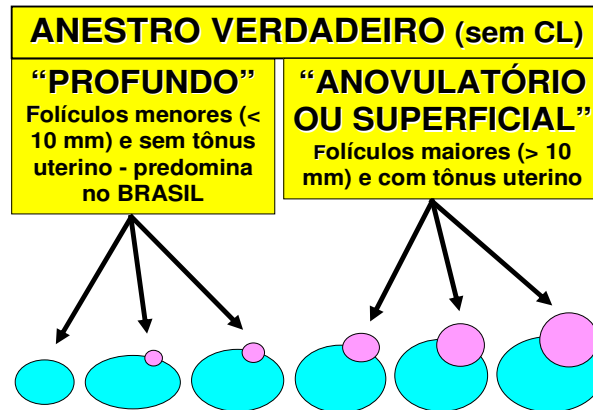


## 2.6. Classificação do anestro em bovinos

Ginther et al. (1996); Wiltbank et al. (2002) e Hanlon et al. (2005) apresentam várias classificações para o anestro bovino, com as respostas aos tratamentos hormonais podendo ser diferentes para cada tipo. Diante disto, é necessário caracterizar a condição de cada animal tratado. Segundo estes autores o anestro vem sendo classificado da seguinte maneira:

- a) Anestro verdadeiro: Os folículos pequenos ou ausentes, não palpados e nem visualizados por ultrassonografia, sem ovulação e ausência de corpo lúteo (CL) e Anestro falso: cio não observado, geralmente problema de manejo.
- b) Anestro superficial: presença de tônus uterino e de folículos com mais de 10mm de diâmetro nos ovários e sem CL. Anestro profundo: ausência de tônus uterino e de folículos com mais de 10mm de diâmetro nos ovários, sem CL. Possíveis estruturas ovarianas no anestro bovino profundo ou superficial são mostradas na Figura 2.
- c) Anestro fisiológico: ocorre na gestação, pré-puberdade ou curto período pós-parto. Anestro patológico: ocorre em casos de patologias uterinas como fetos macerados e mumificados, com CL persistente, ou mesmo patologias ovarianas como cistos foliculares e luteinizados.
- d) Anestro nutricional: esta condição é observada nos casos de subnutrição prolongada

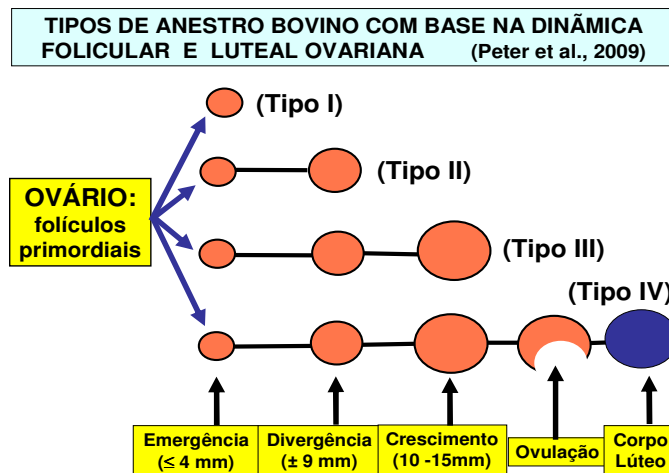
Figura 2. Estruturas ovarianas no anestro verdadeiro em bovinos (profundo ou superficial/anovulatório) (Ferreira, 2010).



Em vários artigos científicos é citado que vacas com anestro podem responder ao tratamento hormonal quando apresentam um escore de condição corporal (ECC) “limite” (Gofer, 2004). Contudo, estes autores não esclarecem o que significa este ECC. Os animais assim classificados, mesmo que não tenham CL, poderiam ter ECC suficiente para estimular o crescimento folicular até o tamanho em que os hormônios exógenos possam atuar? Não estariam próximas de ciclar? Daí o cuidado em afirmar que uma vaca em anestro respondeu a determinado tratamento hormonal.

Uma coerente e esclarecedora classificação das condições de anestro em bovinos é apresentada por Peter et al. (2009) e mostrada na Figura 3. Os autores classificam o anestro em quatro tipos (I, II, III e IV) com base em três estágios funcionais do desenvolvimento folicular (emergência, divergência e ovulação), ou seja, de acordo com a dinâmica folicular e luteal ovariana do animal. Os autores afirmam ainda que a prevenção do anestro é preferível em relação ao tratamento, e que esta prevenção pode ser obtida mantendo a vaca saudável (livre de doenças, boa condição corporal e adequada alimentação) no período peri-parto.

Figura 3. Tipos de anestro de acordo com a dinâmica folicular e luteal ovariana (Peter et al., 2009).



A condição I descrita a seguir é a mais interessante, pois provavelmente coincide com o tipo de anestro predominante no rebanho bovino brasileiro, o que se pretende estudar no presente trabalho:

■ Anestro tipo I (ovário inativo): os folículos iniciam seu crescimento e chegam ao máximo até a emergência (4mm de diâmetro), portanto sem divergência ou estabelecimento de um folículo dominante (FD), são descritos como ovários inativos (Drion et al., 2000). Esta condição está presente em casos de extrema subnutrição, doenças debilitantes ou em curto período pós-parto. Adicionalmente, em dois exames ultrassonográficos com intervalo de sete dias nenhuma alteração é observada nas estruturas ovarianas, acompanhado pela ausência característica de CL ou estruturas císticas.

Segundo Peter et al. (2009), vacas no início do pós-parto ou com baixa reserva corporal de gordura (causas do anestro tipo I) provavelmente não respondem a tratamento hormonal, e que corrigir o manejo é mais apropriado que o difundido uso de hormônios exógenos. É provável que este seja o tipo de anestro que predomina no Brasil, provocado por subnutrição, motivo porque não se pode extrapolar para o Brasil os resultados positivos obtidos em países com melhor condição de manejo nutricional, onde os tratamentos hormonais induzem a ciclicidade em muitas vacas com anestro. Isto ocorre tendo em vista que a quase totalidade do anestro em rebanhos bovinos de países

desenvolvidos está relacionada a animais com presença de folículos maiores, os quais tão somente ainda não ovularam (Ferreira, 2010).

Peter et al. (2009) concluem que preferem focar o aumento da fertilidade do animal ou rebanho promovendo um bom manejo, do que contar com o difundido uso de hormônios exógenos.

## **2.7. Relação do escore de condição corporal com o diâmetro folicular ovariano**

O balanço energético negativo (BEN) geralmente é a causa mais comum de infertilidade. Durante as últimas semanas de gestação e início da lactação, as vacas apresentam um período de balanço energético negativo (Santos, 2000). O BEN é a diferença entre a energia consumida e a necessária para manutenção e produção. A baixa ingestão de nutrientes está associada à perda de peso corporal, a qual é manifestada por mudanças na condição corporal, atraso na primeira ovulação pós-parto, decréscimo na atividade luteal e anestro (Ferreira, 1993).

O escore da condição corporal (ECC) é a melhor avaliação prática que expressa o “status” nutricional do animal (Saturnino & Amaral, 2004). Embora talvez impreciso ou subjetivo, é um indicador funcional de “status” energético e desempenho reprodutivo após o parto (Randel, 1990). Segundo Rodenburg (1992), o ECC é reflexo das reservas de gordura corporal do animal.

Folículos de 4-5mm predominam nos ovários de vacas magras com ovários inativos (anestro) e por isto estes animais são incapazes de responder a qualquer protocolo hormonal com base em FSH, LH ou PGF2 $\alpha$  (Prendville et al., 1996; Gwasdauskas et al., 1996; Webb e Armstrong, 1998; Drion et al., 2000). Desta maneira, os folículos não crescerão o suficiente para ovular e não haverá formação de CL, sem o qual a PGF2 $\alpha$  dos protocolos hormonais não tem como agir.

As vacas em anestro profundo (magras ou muito magras) não apresentam atividade ovariana luteal cíclica, e caso tenham presença de folículos antrais (diâmetro entre 0,2 a 0,4mm), segundo Hanzen et al. (2000). Os mesmos não são identificados por palpação retal, motivo pelo qual estes

ovários, também diminuídos de tamanho, são denominados inativos ou PDL (pequenos, duros e lisos) à palpação retal (Ferreira, 2010).

Segundo Wiltbank et al. (2004), muitas vacas acíclicas apresentam ovários com folículos relativamente pequenos que não produzem suficiente estrógeno (E2) para expressarem os sinais de estro e ovularem, sendo que geralmente apresentam baixo ECC. Ainda segundo estes autores, algumas vacas que não ovulam (classificadas como anovulatórias) podem apresentar folículos grandes e bom ECC, superior a 2,75 em escala de 1 (muito magra) e 5 (muito gorda ou obesa).

No anestro considerado anovulatório pode haver presença de folículos maiores nos ovários, influenciando na eficiência da resposta ao tratamento hormonal. Este fato deve ser um alerta para um grande número de técnicos e produtores no Brasil, que vem usando tratamentos hormonais para bovinos em anestro com base em resultados de literatura estrangeira, resultando em grande insucesso, com aumento de prejuízos do produtor pelos gastos em medicamentos e honorários do técnico. Este insucesso tem como causa o fato da quase totalidade dos casos de anestro no Brasil ser consequência de subnutrição (animais magros), situação em que provavelmente os ovários apresentam folículos pequenos ou ausentes, o que segundo Wiltbank et al. (2004) impossibilita possíveis respostas ovarianas aos hormônios aplicados. Corroborando com estes autores, Borges et al. (2009) afirmam que quando o ECC é baixo e a nutrição insuficiente, não será a terapia hormonal que resolverá o problema da falta de ciclicidade no rebanho.

Em bovinos, o folículo cresce somente até 4mm de diâmetro quando a concentração de hormônio folículo estimulante (FSH) é reduzida, e apenas até 8mm quando a pulsatilidade de liberação de hormônio luteinizante (LH) é inibida (Gong et al., 1996). Isto significa que a partir de um determinado tamanho há necessidade de concentração elevada do FSH, o que vai diminuindo à medida em que o folículo cresce, devido à elevação das concentrações de E2 e inibina (retro alimentação negativa). Aos poucos, ocorre uma troca de dependência do FSH para LH até os folículos ficarem maduros (Webb et al., 2006).

## **2.8. Interação nutrição-reprodução em vacas**

Os efeitos nutricionais são elucidados por um complexo de interação de muitas variáveis como quantidade e qualidade do alimento ingerido, reservas de nutrientes armazenadas no corpo e competição por nutrientes por outras funções fisiológicas, além da reprodução (Short et al., 1990). Short & Adams (1988) descreveram uma escala de prioridades no uso da energia disponível em ruminantes: 1) metabolismo basal; 2) atividades; 3) crescimento; 4) reservas de energia; 5) prenhez; 6) lactação; 7) reservas adicionais de energia; 8) ciclos estrais e início de prenhez; e 9) reservas excedentes de energia.

Dessa forma, em condições de baixa disponibilidade de alimentos, o organismo animal segue uma ordem de prioridade no uso da energia disponível para as diferentes funções orgânicas, onde a apresentação de ciclos estrais e o início da gestação são funções pouco prioritárias. Destarte, as funções reprodutivas só serão ativadas usando o balanço entre quantidade e qualidade da dieta (Catalano & Sirhan, 1995). Assim, observa-se que não existem nutrientes específicos requeridos para reprodução que não sejam necessários para atender a outras funções fisiológicas corporais e, por isso, é difícil determinar as funções específicas e os mecanismos pelos quais a nutrição pode afetar a função ovariana (Borges, 2006).

Baixos níveis nutricionais são conhecidos como deletérios no retorno da atividade ovariana pós-parto (Dunn & Kaltenbach, 1980). A subnutrição afeta a atividade cíclica ovariana de vacas no pós-parto, aumentando o intervalo parto-primeiro estro. O mecanismo mais provável de inibição da atividade reprodutiva seria a supressão da liberação dos picos de LH pela hipófise anterior, que é controlada pela liberação de GnRH no hipotálamo (Randel, 1990). Entre os efeitos da nutrição na reprodução, é provável que o balanço energético seja o mais importante e o único fator nutricional ligado à baixa função reprodutora das vacas (Lamb, 2003).

O balanço energético negativo diminui a frequência dos pulsos de LH, a velocidade de crescimento e diâmetro do folículo dominante, assim como a concentração sérica de IGF-I, glicose e insulina. Adicionalmente, aumenta a concentração sérica de GH e de alguns metabólitos sanguíneos. Esses efeitos resultam em perda de escore de condição corporal, provocando,

consequentemente, uma maior porcentagem de vacas em anestro (Roche et al., 2000).

A ingestão inadequada de nutrientes antes (Bellows et al., 1982) ou depois do parto (Grimmard et al., 1995) tem efeito maléfico maior na reprodução pós-parto em primíparas do que em pluríparas (Richards et al., 1986; Selk et al., 1988). Estudos anteriores demonstram que: 1) a nutrição no pré-parto é mais importante que a nutrição no pós-parto para determinar o comprimento do anestro no pós-parto; 2) a dieta energética baixa durante a gestação recente diminui a reprodução até mesmo quando energia dietética for suficiente durante lactação; 3) um escore de condição corporal maior ou igual 3,5 assegurará reservas corporais adequadas para a reprodução no pós-parto; 4) declínios adicionais na reprodução ocorrem quando a vaca lactante está em balanço energético negativo (Hess et al., 2005).

## **2.9. Restabelecimento da função reprodutiva no pós-parto**

De acordo com Short et al. (1990), o restabelecimento da função reprodutiva no pós-parto depende da involução uterina normal e do correto funcionamento do eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano-uterino, com o restabelecimento dos ciclos estrais, seguido da regularização de sua duração e da redução do anestro no decorrer de pós-parto.

O intervalo do parto ao retorno da atividade reprodutiva normal tem sido considerado como o ponto de estrangulamento para a obtenção de uma máxima eficiência reprodutiva em bovinos. Os mecanismos associados com a aquisição e posterior manutenção da competência reprodutiva são dependentes da integração funcional do eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Hess et al., 2005). Até o final da gestação, o eixo hipotalâmico-hipofisário responde a um efeito de feedback negativo dos esteróides ovarianos e placentários, pela supressão da liberação do FSH e acúmulo desse hormônio na hipófise anterior e depleção dos estoques de LH (Yavas & Walton, 2000b).

O desenvolvimento folicular em bovinos ocorre na forma de ondas de crescimento, sob o controle primário das gonadotrofinas FSH e LH, em diferentes momentos da vida da vaca. A dinâmica folicular pode ser dividida em três fases: emergência, seleção (ou divergência) e dominância. A primeira fase

é caracterizada por dependência de FSH para o crescimento de folículos, a partir de quatro milímetros de diâmetro. Adams et al. (1992) associaram a emergência da onda folicular com um aumento de 50 a 75% das concentrações séricas de FSH. Assim, uma onda ou pico de FSH é responsável pela emergência de um grupo de folículos que crescem sob a sua influência até a fase de seleção (segunda fase), quando apenas um folículo continuará o seu desenvolvimento, diante da mudança de sua dependência gonadotrófica, do FSH para o LH (Ireland et al., 2000; Driancourt, 2001; Mihm et al., 2002).

A terceira fase é a de dominância, período caracterizado pelo crescimento do folículo dominante (FD) sob a influência do LH, quando o mesmo, através de hormônios como estrógeno e inibina, inibe o desenvolvimento dos outros folículos, denominados de subordinados, pela supressão hipofisária de FSH. Durante a onda folicular, o folículo que se torna dominante é aquele que primeiro expressa receptores para LH nas células da granulosa. Ainda, o FD apresenta maior sensibilidade às ações das gonadotrofinas. Dessa forma, o folículo dominante, ao aumentar a produção de estrógeno e inibina, promove redução nas concentrações plasmáticas de FSH, com subsequente regressão dos folículos subordinados. Concomitantemente, o FD passa por uma transição quanto à dependência gonadotrófica, de FSH para LH, a partir do momento em que desenvolve receptores para LH nas células da granulosa. Contudo, existe uma janela de tempo considerada crucial para a sobrevivência do FD, que coincide com a queda nas concentrações de FSH e a transição da dependência gonadotrófica (Driancourt, 2001; Mihm et al., 2002).

Após o parto, há aumento do FSH seguido pela primeira onda de emergência folicular (dois a sete dias após o parto) (Wiltbank et al., 2002). Estudos indicam que é o LH, e não o FSH, o hormônio limitante para o início da atividade ovariana no pós-parto. Depois que os estoques de LH são restabelecidos entre 15 e 30 dias pós-parto (Yavas & Walton, 2000a), secreções de estradiol ( $E_2$ ), eventualmente alcançam limiares que ativam a liberação de picos de GnRH, e conseqüentemente causam maior amplitude do pico de liberação do LH, desencadeando o processo de ovulação.

Segundo Yavas e Walton (2000) e Montiel & Ahuja (2005), as ondas de crescimento folicular que emergem logo após o parto produzem folículos

dominantes que falham ao ovular, devido à influência na maturação final deste folículo, pois há menor número de pulsos de LH.

## **2.10. Ação de hormônios e metabólitos sobre a reprodução**

As alterações hormonais no final da gestação e início da lactação provocam mudanças nas concentrações dos constituintes metabólicos relacionados ao equilíbrio energético dos animais. Durante o final do período pré-parto e início da lactação, as exigências em nutrientes e energia aumentam, como resultado da demanda para o crescimento fetal e a produção de leite (Lago, et al., 2001; Schmidely et al., 1999).

### **2.10.1. Progesterona e Estradiol**

A progesterona e o estradiol regulam a síntese e liberação de gonadotrofina por meio dos efeitos do feedback positivo e negativo no sistema nervoso central e hipófise anterior (Kesner et al., 1981).

As concentrações de progesterona atingem valores máximos cerca de duas semanas após a ovulação e assim permanecem até pouco antes do parto. Durante a gestação de vacas da raça Nelore foram registradas concentrações de progesterona de 11,5 ng/mL até os 270 dias e no pós-parto, estes valores caíram para 0,1 ng/mL (Mucciolo & Barbeiro, 1983)

O estradiol influencia a secreção pulsátil de GnRH (Smith & Jennes, 2001) e aumenta a sensibilidade da hipófise anterior para o GnRH pelo aumento de receptores de GnRH nas células basófilas na hipófise anterior (Schoenemann et al., 1985). As concentrações plasmáticas de estrógeno aumentam rapidamente após o parto (Wettemann, 1980). Porém, durante o período anovulatório pós-parto, as concentrações de estradiol no plasma podem aumentar por curta duração, mas esses aumentos podem não estar associados ao crescimento e maturação folicular (Stagg et al., 1995). A ovulação no pós-parto é dependente da produção suficiente de estradiol pelo folículo dominante para estimular a síntese e liberação da gonadotrofina pré-ovulatória (Day, 2004).

### 2.10.2. Glicose e Insulina

A glicose é praticamente a única fonte de energia utilizada pelo sistema nervoso e considerando que o eixo neuro-endócrino está intimamente envolvido no controle reprodutivo e secreção hormonal, parece lógico que a concentração sérica de glicose seja o mediador específico para os efeitos da ingestão de energia sobre a reprodução (Short & Adams, 1988).

Neste contexto, a insulina tem sido considerada como o principal hormônio regulador da glicemia em mamíferos, mesmo em ruminantes onde ocorre fluxo constante de precursores gliconeogênicos a partir do rúmen (Holtenius et al., 2003). Tendo em vista que os ovários e o hipotálamo têm receptores para insulina (Gutierrez et al., 1997). A glicose é também utilizada como fonte de energia pelos ovários (Rabbiee et al., 1997).

As concentrações plasmáticas de glicose nos bovinos são extremamente constantes quando comparadas com animais monogástricos (Wettemann et al., 2003). No pré-parto, a concentração plasmática de glicose permanece estável ou pode sofrer leve aumento, apresentando um pico ao parto, e então decresce imediatamente no pós-parto até concentrações inferiores ao normal (Grummer, 1995). No entanto, Ruas et al. (2000) avaliando vacas zebuínas da raça Nelore no pós-parto, registraram concentração crescente de glicose ao longo do pós-parto: 0 a 45 dias – 66,95 mg/dL, 46 a 90 dias – 72,75 mg/dL e acima de 90 dias – 79,29 mg/dL e relacionaram este aumento à produção de leite.

A insulina estimula a liberação de GnRH de fragmentos hipotalâmicos *in vitro* quando a glicose está disponível (Arias et al., 1992) e quando infundida nos ventrículos cerebrais de ovelhas desnutridas aumenta a secreção de LH (Daniel et al., 2000). A insulina também estimula a esteroidogênese pelas células ovarianas bovinas (Spicer & Echternkamp, 1995) assim como estimula o desenvolvimento folicular em vacas sistematicamente tratadas com insulina (Harrison & Randel, 1986) e a produção de estradiol pelos folículos maiores (Simpson et al., 1994). Lucy (2003) verificou que as concentrações sanguíneas de insulina e IGF-I diminuem imediatamente após o parto, aumentando progressivamente a seguir.

### **2.10.3. IGF/Somatomedina**

O IGF-I ou somatomedina é produzido pelo fígado e atua sobre os principais tipos de células que regulam o metabolismo de carboidratos, gorduras, proteínas e tem sido proposto como regulador hipofisário do crescimento folicular ovariano (Ferreira et al., 2002).

As concentrações plasmáticas de IGF-I são relacionadas positivamente com a condição corporal e nutrientes ingeridos, sendo que as baixas concentrações de IGF-I são relacionadas com longo intervalo pós-parto em vacas de corte (Diskin et al., 2003). Neste caso, as concentrações sanguíneas de IGF-I durante os primeiros dias pós-parto é inversamente relacionada com a duração do anestro pós-parto e aumenta durante esse período até a ovulação (Yavas & Walton, 2000).

### **2.10.4. Leptina**

A leptina é atualmente o centro dos estudos em endocrinologia dos animais de produção (Macajavá et al., 2004). A leptina é um hormônio protéico produzido pelos adipócitos e atua no hipotálamo, hipófise, pâncreas e ovários, tendo papel importante na comunicação do “status nutricional” ao sistema nervoso central, incluindo os centros que controlam a reprodução (Williams et al., 2002).

A hipótese mais aceita para a ação da leptina é que atue como tradutor de apetite, assim como, um fator de saciedade (Boland et al., 2001), embora em ruminantes ainda não existam evidências definitivas sobre sua função (Reist et al., 2003).

Cunningham et al. (1999) sugeriram que a leptina representa um sinal metabólico para o eixo reprodutivo neuro-endócrino e que, sob condições inadequadas de reserva energética, baixas concentrações de leptina atue como uma “chave metabólica” para inibir a atividade reprodutiva no eixo neuro-endócrino em ambos os sexos. Segundo Williams et al. (2002) e Vernon et al. (2001), a concentração circulante de leptina está relacionada positivamente com as concentrações circulantes de glicose, insulina, fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I), estradiol e cortisol. Contudo, atua

negativamente com o jejum, concentrações do hormônio do crescimento (GH) e das proteínas ligadoras de IGF (IGFBP).

#### **2.10.5. Colesterol**

O colesterol pode influenciar a reprodução de bovinos, visto que, é relacionado como precursor da estereoidogênese “in vivo”, estando presente nas lipoproteínas HDL e LDL. Adicionalmente, é o principal precursor da estereoidogênese em bovinos (O’Shaughnessy & Whates, 1985).

As concentrações plasmáticas de colesterol podem variar em função da condição fisiológica do animal, produção leiteira, estágio de lactação e dieta. (González et al., 1996), reduzindo ao longo da gestação, atingindo os menores valores na primeira semana de amamentação e aumentando progressivamente nas semanas seguintes (Guédon et al., 1999).

#### **2.10.6. Ácido graxos não esterificados (AGNE)**

As concentrações de ácidos graxos não esterificados (AGNE) ou ácidos graxos livres (AGL) no plasma são usadas para indicar a mobilização de gordura durante período de insuficiente consumo de energia (Holmes & Lambourne, 1970, citados por Salfer et al., 1995). O aumento da concentração de AGNE no sangue pode ser devido à lipólise do tecido adiposo (Erickson et al., 1992). A explicação seria a hidrólise dos triglicerídeos pela ação da lipase lipoprotéica e pela estimulação da lipomobilização (Palmquist & Conrad, 1978; Champe & Harvey, 1996).

O pico da concentração de AGNE no plasma é próximo ao parto, permanecendo por curto tempo após o parto associado ao baixo consumo alimentar e alta produção de leite. A elevada concentração de AGNE no plasma está altamente correlacionada com o balanço energético negativo (Pullen et al., 1989).

## **2.11. Tratamentos hormonais para anestro em bovinos**

Alguns protocolos hormonais são sugeridos para o tratamento de anestro em bovinos. Entretanto, devem ser aceitos com certa reserva ou cautela, pois os resultados dependem do ECC dos animais (muito magro, magro ou regular) e das estruturas ovarianas presentes no ovário quando for iniciado o tratamento.

A utilização de protocolos hormonais para a indução e sincronização de estros e ovulações visa, dentre outros objetivos: concentrar estros, acasalamentos, inseminações artificiais e partos, reduzir a mão-de-obra, induzir a ciclicidade em animais em anestro no pós-parto, detectar vacas com problemas reprodutivos e reduzir o intervalo de partos (Aller et al., 1996; Bolaños et al., 1997; Cavalieri et al., 1997; Mihm, 1999; Mackey et al., 2000; Nation et al., 2000; Driancourt, 2001; Rhodes et al., 2002; Colazo et al., 2003; Rhodes et al., 2003; Baruselli et al., 2004; Day, 2004; Ruas et al.; 2005; Ayres et al., 2008; Carvalho et al., 2008; Palomares-Naveda et al., 2008).

Dentre estas proposições, pode-se adotar terapias que empregam diversos hormônios, associados ou não com manejos de amamentação, visando reduzir o período de anestro no pós-parto de vacas leiteiras e de corte (De Castro et al., 2006).

### **2.11.1. Protocolo ovsynch para fêmeas bovina em anestro**

Thatcher et al. (2004) induziram estro em 75% das vacas em anestro usando o protocolo Ovsynch, obtendo 22% de gestação, taxa considerada baixa por ter sido obtida em animais com bom ECC, comparado com 42% em vacas ciclando. Alertam, entretanto, que a maioria dos estros podem ter ocorrido pela ação do estrógeno usado no protocolo. Thompson et al. (1999) relatam que 75% das vacas acíclicas, mas com presença de FD, tratadas com protocolo hormonal tiveram estruturas luteínicas ovarianas induzidas, com aumento de progesterona em sete dias.

Wiltbank et al. (2004) afirmam que a taxa de concepção (22,2%) é muito baixa em vacas anovulatórias tratadas com Ovsynch aos 70 dias pós-parto, comparado com 36% daquelas tratadas com CIDR-Synch. Os autores

concluíram que o tratamento hormonal utilizado parece não ser eficaz para vacas anovulatórias

Com Ovsynch tem-se menos sucesso para vacas em anestro quando o crescimento do FD é retardado (Cartmill et al., 2001; Thatcher et al., 2001). O FD da vaca em anestro não persiste na presença de uma concentração sub-luteal de progesterona, podendo ser este o motivo da diferença entre respostas de vacas acíclicas e ciclando (Rhodes et al., 2002). Sincronizar ovulação nas vacas em anestro e com FD pequeno não aumenta a eficiência reprodutiva, provavelmente por formar um CL menor e que produz menos progesterona (Burke et al., 2001; Macmillan et al., 2003).

Folículos de 10,7 e 12,0mm formaram CL respectivamente de 3,0 e 3,6cm<sup>2</sup> (Macmillan et al., 2003). Estes autores verificaram também que a injeção de 100µg de GnRH em bovinos com presença de FD de 11 e 13mm resultou em taxas de concepção aos 30 dias de respectivamente 4,4% e 57,4%. Santos et al. (2004) também mencionam maiores taxas de prenhez após tratamento hormonal.

### **2.11.2. Protocolos com implantes de progestágenos**

Vários autores citam certo estímulo para início do ciclo estral (ovulação e formação de CL) nas vacas em anestro, após implante de progesterona (Lamb et al., 2001; Stevenson et al., 2000-2003-2006; Colazo, 2003, Wheaton e Lamb, 2007; Cerri et al., 2009). O tratamento com progesterona, em vacas em anestro pós-parto, pode reverter o *feedback* negativo ao GnRH e LH resultante das elevadas concentrações de estradiol de origem placentária. Sendo assim, evita ovulações sem sinais externos de estro, proporciona ciclos estrais de duração normal e aumenta a frequência e amplitude da secreção de LH, determinando a ovulação dos animais tratados (Mackey et al., 2000).

Hanlon et al. (2005) trataram vacas leiteiras mantidas a pasto (Nova Zelândia) sem CL aos 21 dias pós-parto, com implante de progestágenos por seis dias e aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol um dia após a retirada do implante, inseminando no estro observado, e obtiveram 45% de gestação. Entretanto, a taxa de concepção foi bem menor para as vacas em anestro anovulatório (AA) do que para as vacas ciclando. Somente foram incluídas no

estudo vacas com ECC maior ou igual a 3,5 (escala de 1-10) para minimizar o efeito da má nutrição. Relatam ainda que nas vacas com anestro anovulatório (AA) tratadas com progestina intravaginal, a taxa de concepção foi menor naquelas que tiveram o estro induzido do que nas ciclando.

Novilhas sem o peso mínimo necessário e com menos de 12 meses de idade não respondem ao tratamento com implantes para estimular a puberdade (Rathbone et al., 2001). Às vezes pode ocorrer um estro infértil (apenas sinais de estro) provocado pelo próprio estrógeno do protocolo hormonal, mas o animal continuar em anestro após o falso estro induzido. Novilhas pré-púberes podem exibir estro sem ovulação após a remoção do implante, com similares resultados sendo relatados para vacas em anestro, com algumas apresentando sinais de estro e posteriormente não retornando mais ao estro. A conclusão é de que o implante de progestágeno associado ao estrógeno para fêmeas bovinas em anestro pode induzir o comportamento de estro, independente de qualquer influência ou efeito ovariano.

Stevenson et al. (2006) usaram implantes de progestágeno associado ao Ovsynch para vacas anovulatórias e ciclando, verificando maiores perdas de gestação entre 28-56 dias após a IATF para vacas que não estavam ciclando (31%), comparado com as vacas ciclando (16%). Entretanto, não encontraram diferenças na taxa das que receberam ou não o implante (21%).

Gilbert (2004) e Lucy et al. (2004) afirmam que tratamentos com progesterona são úteis para vacas em anestro pós-parto, o que não foi confirmado por Nation et al. (2000), ao afirmarem que vacas magras (baixo ECC) ao parto apresentam extenso período anovulatório no início da lactação. Estes pesquisadores verificaram também que o tratamento com implantes de progesterona por cinco dias não foi suficiente para restaurar a função do eixo endócrino reprodutivo de vacas em anestro para que voltassem a ciclar, não sendo efetivo para aumentar as concentrações de LH ou induzir estro e ovulação em vacas de baixo ECC.

McDougall et al. (2005) afirmam que o anestro anovulatório é problema reprodutivo em rebanhos da Nova Zelândia, com  $\pm 20\%$  das vacas não sendo detectadas em estro no início da estação de cruzamento. Trabalharam em 17 rebanhos, nos quais examinaram 1.883 vacas não observadas em estro até 10 dias antes da estação de monta, uma média de 31,5% variando de 9,1%-52,5%

entre rebanhos, das quais 1.555 (82,6%) estavam sem CL e 328 (17,4%) com CL palpável. Aplicaram progesterona intravaginal por seis dias, seguido dois dias mais tarde de 1,0mg de cipionato de estradiol, fazendo a inseminação artificial. Verificaram 55% de gestação nas vacas ciclando e 45% naquelas em anestro. As vacas tiveram o ECC avaliado (escala de 1-10), sendo considerado menor que 4,0 (baixo) e maior ou igual a 4,0 (alto). Estes autores verificaram que vacas com alto ECC tiveram maior taxa de gestação aos 56 dias em comparação com aquelas de baixo ECC.

Wheaton e Lamb (2007) utilizaram implante de progesterona intravaginal em 105 vacas Angus consideradas em anestro (sem CL) aos 40 dias pós-parto, sendo as primíparas com  $\pm 2$  anos de idade e  $495 \pm 6$  kg de peso vivo e as multíparas com 3 anos de idade e  $555 \pm 9$  kg. O ECC médio variou de 4,8-5,4 entre os grupos experimentais (escala de 1-9), sendo 3 magro, 5 moderado e 7 ligeiramente gordo. Os autores verificaram início de ciclicidade (ovulação e formação de CL) em 44% dos animais (46/105), com 41% continuando em anestro (43/105) e 15,2% (16/105) ovulando espontaneamente pré-tratamento. Concluíram que o tratamento com implante de progesterona por menos de 10 dias estimulou o estro em vacas de corte em anestro pós-parto.

Chebel et al. (2006) verificaram que o tratamento com CIDR em vacas leiteiras de alta produção aumenta a probabilidade de início do ciclo estral. Todavia, 50% das vacas em anestro não responderam ao tratamento.

Cerri et al. (2009) utilizaram implantes de progestágenos em vacas com anestro pesando 680 kg, 45 kg de leite/dia, ECC em torno de 3,0 (1 = muito magro e 5 = muito gorda) e folículos com diâmetro de  $17,9 \pm 0,8$  (grupo 1) e  $18,2 \pm 0,8$  mm (grupo 2), mas sem CL. Concluíram que o implante de progesterona pode estimular a ovulação, conseqüentemente, a formação de um corpo lúteo em alguns animais, desde que os mesmos apresentem FD com diâmetro acima de 10 mm.

## **3.0. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1. Localização**

Os experimentos foram conduzidos em quatro propriedades localizadas na região de Valença, Sul do Estado do Rio de Janeiro, no período de dezembro de 2010 a dezembro de 2012, utilizando-se a mesma metodologia e adequando-se ao manejo específico de cada propriedade. O município localiza-se nas coordenadas geográficas de 22° 14' Sul, 43° 42' Oeste e com 560 m de altitude, com as estações do ano bem definidas com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, clima Tropical de Altitude, com temperatura média anual de 21,2°C e precipitação pluviométrica acima de 1.400 mm anuais.

### **3.2. Delineamento Experimental**

Inicialmente foi realizada a seleção dos animais aptos ao experimento, sendo descartadas vacas com menos de 35 dias pós-parto, animais gestantes e animais com algum tipo de patologia. Os animais experimentais apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doenças infecciosas ou metabólicas e de alterações nos órgãos genitais. A condição reprodutiva foi avaliada por palpação e ultrassonografia transretal, que possibilitou a visualização e a mensuração das estruturas ovarianas (Beal et al., 1992). A presença ou ausência de corpo lúteo (CL), verificada por ultrassonografia ao início do tratamento não foi considerada como critério de seleção. Os animais foram classificados quanto ao escore de condição corporal, segundo a escala de 1 a 5, segundo Ferreira (1990), onde 1 = muito magra, 2 = magra, 3 = regular, 4 = boa e 5 = gorda. Esta categorização foi realizada apenas no dia zero (dia do início). Foram considerados valores intermediários, como por exemplo, ECC = 2,5, quando o animal demonstrava estar intermediário entre o magro e o regular.

### **3.2.1. Experimento I – Dinâmica ovariana em vacas magras na condição de anestro.**

Neste experimento foram realizados os exames da dinâmica folicular durante 21 dias em 18 vacas lactantes em anestro, com ECC menor que 2,5. As vacas foram mantidas juntas em pasto de braquiária (*Brachiaria Brizanta*), com sal mineral e água à vontade.

A manifestação de estro foi monitorada visualmente durante uma hora por três vezes ao dia: manhã (06:00 às 07:00h), meio-dia (12:00 às 13:00h) e à tarde (18:00 às 19:00h), com auxílio de rufião preparado por aderência peniana e equipado com buçal marcador com tinta de fácil identificação. Durante os horários de observação, quando necessário, os animais foram movimentados visando o agrupamento dos mesmos, com maior contato entre si e evitando assim, preferências por parte do grupo sexualmente ativo. Foram considerados em estro os animais que aceitavam monta pelo rufião ou pelas companheiras do rebanho e que se apresentavam com intensa marcação pela tinta do buçal marcador.

Os exames ultrassonográficos foram realizados por via transretal, utilizando-se um aparelho portátil da marca ALOKA, modelo SSD-500, acoplado a um transdutor linear de 5 MHz. As medições tiveram início ao acaso e foram realizadas diariamente pela manhã, por um único operador, durante um período 21 dias em 18 animais. Foi registrado o diâmetro máximo do maior folículo. Os valores obtidos foram tabulados para representação gráfica da dinâmica folicular dos animais.

A emergência da onda folicular foi estabelecida como o primeiro dia em que se encontrou um folículo com diâmetro maior ou igual a 4mm. Cada onda foi dividida em fase de crescimento, fase estática e de regressão. A fase de crescimento foi do dia da detecção do folículo até o dia em que cessou o seu crescimento progressivo. A fase estática foi o período entre o último dia de crescimento até o início da redução de seu diâmetro. A fase de regressão foi do último dia do diâmetro estático até atingir um diâmetro igual a 4mm (Ginther et al., 1989). O folículo dominante de cada onda foi definido como aquele que possuía o maior diâmetro, o qual excedeu o de todos os outros folículos da respectiva onda.

Os diâmetros dos folículos dominantes foram medidos pela maior distância (mm) entre dois pontos da cavidade antral dos folículos a partir de 4mm. Quando o folículo atingiu seu diâmetro máximo, calculou-se a duração em dias. O comprimento da onda de crescimento folicular correspondeu ao número de dias entre sua emergência e a regressão do folículo dominante, até um diâmetro igual a 4mm.

### **3.2.2. Experimento II – Indução da ovulação em vacas com diferentes graus de escore de condição corporal.**

Neste experimento foram utilizadas 186 vacas em lactação, mestiças Holandês X Zebu, com diferentes graus de sangue, com média de  $79,1 \pm 29,3$  dias de pós-parto. As fêmeas foram mantidas em pastagens durante a estação chuvosa, sendo que, na estação seca do ano, recebiam suplementação de volumoso no cocho. Durante o ano todo recebiam concentrado de acordo com a produção de leite, com disponibilidade de sal mineralizado e água *ad libitum*.

As vacas foram agrupadas em três grupos experimentais (G1, G2 e G3) de acordo com o grau do Escore de Condição Corporal (ECC). No grupo G1 foram utilizados 69 animais com ECC menor que 2,5. No grupo G2 foram 68 animais com ECC igual a 2,5. No grupo G3 foram utilizados 49 animais com ECC acima de 2,5.

Após a divisão dos grupos os animais receberam o mesmo protocolo hormonal. Foi utilizado o seguinte protocolo hormonal para os animais de todos os grupos: no dia zero, após a avaliação ginecológica, introduziu-se um dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) com 1,9g de progesterona (CIDR®) e receberam a injeção intramuscular de 2mg de Benzoato de Estradiol (BE) (Estrogin®). No dia sete foi realizada uma avaliação ultrassonográfica nas vacas para verificar a presença ou não de corpo lúteo. Os animais que apresentavam CL receberam 500µg de cloprostenol sódico (Sincrocio®) intramuscular. Também no dia sete, os animais de todos os grupos receberam 300 UI de ECG (Novormom®). No Dia oito foi retirado o implante de progesterona e aplicado 1mg de cipionato de estradiol (ECP®), pela via intramuscular. Após a retirada do implante iniciou-se a observação de estro. Vacas detectadas em estro foram inseminadas 12 horas depois. Aquelas não

detectadas foram inseminadas 48 horas após a retirada do implante. A detecção do estro foi realizada conforme descrito no experimento I.

Os exames ultrassonográficos foram realizados por via transretal, utilizando-se um aparelho portátil da marca ALOKA, modelo SSD-500, acoplado a um transdutor linear de 5 MHz.

Posteriormente à implementação do protocolo hormonal (dia zero), foram realizadas quatro avaliações ginecológicas (palpação e ultrasonografia transretal), registrando-se:

Dia zero (dia da colocação do implante de progesterona): mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais experimentais e da área (cm<sup>2</sup>) do corpo lúteo, quando presente.

Dia oito (dia da retirada do implante de progesterona): mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais experimentais.

Dia 17 (confirmação da ovulação após o protocolo hormonal): identificou-se e mensurou-se a presença do corpo lúteo e/ou tecido luteal (área), para determinar a Taxa de Ovulação (TO) e possibilitar a re-sincronização das que não ovularam, mas foram consideradas aptas. A TO correspondeu ao percentual de vacas que ovularam.

Dia 28 (diagnóstico de gestação): foi realizado o diagnóstico de gestação das vacas, para determinar a Taxa de Prenhez (TP). A TP foi determinada pelo percentual de vacas que conceberam do total de vacas inseminadas aos 28 dias após a inseminação artificial.

### **3.3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

Cada variável quantitativa foi submetida aos testes de Normalidade (Lilliefors) e Homocedasticidade (Cochran) e posteriormente a análise de variância. Quando apresentaram significância, foi realizado o teste de comparação de médias mais apropriado, no intuito de evitar erro estatístico tipo I ou tipo II (SAEG, 1999).

As variáveis qualitativas foram comparadas em tabelas de contingência e analisadas pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade (Sampaio, 2002).

As variáveis foram também submetidas ao teste de Correlação de Pearson (SAEG, 1999).

## 4.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 EXPERIMENTO I - Dinâmica ovariana em vacas magras na condição de anestro.

Os exames ultrassonográficos tiveram início num mesmo dia, ao acaso, em todas as 18 vacas, sendo repetidos diariamente até o vigésimo primeiro dia. Nenhum animal apresentou estro, ovulação ou luteinização folicular durante a avaliação da dinâmica folicular, demonstrando que todas as vacas estavam em anestro. Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com algumas informações disponíveis na literatura. Segundo Drion et al. (2000), vacas no início do pós-parto ou com baixa reserva corporal de gordura provavelmente apresentarão o anestro tipo I, onde estão presentes pequenos folículos. É provável que este seja o tipo de anestro que predomina no Brasil, tendo em vista que todos os animais apresentavam baixo ECC, provocado por subnutrição. Nesta condição nenhum protocolo hormonal deve ser indicado, seja para IATF ou indução do estro (Ferreira, 2010).

De acordo com Diskin et al. (2003) a ação da nutrição sobre a reprodução inclui efeitos sistêmicos: 1) no hipotálamo, via síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH); 2) na adeno-hipófise, pela síntese e liberação de FSH, LH e hormônio do crescimento (GH); e 3) nos ovários, por meio da regulação do crescimento folicular e da síntese de esteroides – (estradiol e progesterona). Isso interfere nos eventos da dinâmica folicular ovariana, tendo como consequência principal o prolongamento do intervalo do parto à concepção devido ao longo período de anestro, tanto em vacas de leite como de corte (Dawuda et al., 2002; Tanaka et al., 2008).

Verificou-se que a dinâmica folicular das vacas magras avaliadas apresentou padrão de dois ou três ciclos de crescimento folicular, (23,3 e 77,7% para ciclos com duas e três ondas, respectivamente). Neste sentido, o anestro pós-parto é caracterizado pela emergência e divergência de sucessivas ondas foliculares (Mihm, 1999). Dessa forma, ocorrem várias ondas foliculares com folículos pequenos (fato este observado no presente trabalho), até ocorrer à primeira ovulação pós-parto (McDougall et al., 1995).

Esta predominância encontrada de ciclos com três ondas também foi verificada em gado europeu (Savio et al.,1988), em vacas Gir (Viana et al.,2000) e em vacas mestiças Holandês X Zebu (Almeida Neto et al.,2011). Entretanto, vale ressaltar que todos esses trabalhos utilizaram animais com atividade ovariana luteal cíclica, enquanto que no presente trabalho todos os animais estavam em anestro.

Em uma pesquisa similar ao presente trabalho, Borges et al. (2004), utilizando vacas Gir em anestro durante os primeiros 50 dias pós-parto, encontraram uma frequência de ondas foliculares média de  $5,2 \pm 1,2$ , variando de quatro a oito ondas. Este maior número de ondas de crescimento folicular pode ser explicada pelo maior tempo de avaliação, em torno de 50 dias, enquanto que no presente experimento os animais foram avaliados durante o período equivalente a um ciclo estral, ou seja, 21 dias.

As vacas apresentaram um padrão regular de crescimento e regressão folicular. O diâmetro máximo dos folículos dominantes para as ondas foi de  $6,1 \pm 0,7$ mm, com valor mínimo de 5,2mm e máximo de 6,5mm. Os resultados deste estudo são inferiores aos encontrados por Borges et al. (2004) em vacas Gir no pós-parto, onde o tamanho dos folículos dominantes foi de  $8,9 \pm 0,6$ mm. Esta diferença observada ocorreu tendo em vista que estes autores avaliaram vacas com bom ECC, enquanto que no presente experimento, foram utilizados animais de baixo ECC. Neste contexto, o crescimento folicular é categorizado em fase independente e dependente das gonadotrofinas (Webb et al., 2004). Folículos antrais crescem até o diâmetro de 4mm na ausência de FSH e LH, indicando que as fases pré-antral e antral inicial ocorrem fundamentalmente a partir de estímulos locais. Entretanto, o crescimento entre 4 e 8mm mostrou-se dependente do FSH e independente do LH, enquanto que folículos maiores que 9 mm só foram observados na presença de LH endógeno ou FSH exógeno (Gong et al., 1996).

Os animais do presente experimento estavam submetidos à restrições alimentares crônicas, e todos tinham escore de condição corporal menor que 2,5 na escala de 1 a 5. Sabe-se que ocorre redução do diâmetro do folículo dominante à medida que se acentua a perda de peso e escore corporal (Murphy et al., 1991; Stagg, 2000; Cavestany, 2002; Alexander et al., 2007) . Isto se deve a redução das concentrações de leptina e IGF-I e aumento na

secreção de neuropeptídeo-Y (Rhodes et al., 1995; Bossis et al., 1999; Stagg, 2000), até que se estabeleça o anestro, quando os animais de boa condição corporal perdem em média 17,0% (HALE, 1975) e 22 a 24,0% (Ferreira, 1990; Diskin et al., 2003; Ferreira, 2010) do peso vivo inicial, fato que deve ter ocorrido nos animais estudados.

Os folículos dominantes cresceram a uma taxa de  $0,58 \pm 0,2$  mm/dia até atingir o diâmetro máximo e, posteriormente, regrediram em  $0,63 \pm 0,3$  mm/dia. Estes valores são inferiores aos encontrados em animais cíclicos, tanto zebuínos (Borges et al., 2001) quanto mestiços (Almeida Neto et al., 2011). Neste sentido, vale ressaltar que o crescimento folicular depende da secreção de LH, influenciando inclusive a população folicular. Um balanço energético negativo ou uma restrição alimentar crônica causa um efeito inibitório do estrógeno na secreção de GnRH, o que se traduz em uma diminuição nos pulsos de LH e numa diminuição do crescimento folicular (Cavestany, 2002).

O comprimento da onda dos folículos dominantes foi de  $8,0 \pm 2,9$  dias, cujos valores são inferiores aos  $9,4 \pm 3,5$  dias encontrados por Borges et al., (2004) em vacas da raça Gir em anestro pós-parto. Este menor comprimento deve-se à menor duração da fase de crescimento ( $4,8 \pm 1,2$  dias) e da dominância folicular ( $2,8 \pm 1,1$  dias). Essa menor duração do crescimento da onda está relacionado com a restrição nutricional crônica, levando à redução gradual na taxa de crescimento, no diâmetro máximo e na persistência do folículo dominante, tanto de novilhas (Murphy et al., 1991; Alexander et al., 2007), quanto de vacas em lactação (Stagg, 2000), estando essas características ligadas, principalmente, ao padrão de secreção de LH (Diskin et al., 2003).

#### 4.2 EXPERIMENTO II - Indução da ovulação em vacas com diferentes graus de escore de condição corporal.

Foi observado menor diâmetro folicular e área de corpo lúteo ( $P < 0,05$ ) nas vacas do grupo G1 em relação ao verificado nos grupos G2 e G3, tanto em relação ao diâmetro folicular na colocação como na retirada do implante intravaginal de progesterona (Tabela 1). O menor diâmetro do folículo dominante no início da terapia hormonal das vacas do grupo G1, está provavelmente relacionado com fatores nutricionais, como consequência do baixo escore de condição corporal dos animais deste grupo. Estes fatores interferem negativamente no crescimento folicular e no retorno da atividade ovariana luteal cíclica no pós-parto (Ferreira et al., 2000; Diskin et al., 2003; Vanholder et al., 2006). Desta forma, animais com melhor condição metabólica e hormonal, possuem folículos dominantes com diâmetros igual ou superior a 10mm, ao início do protocolo hormonal (Ferreira, 1990), com melhor capacidade de resposta ao protocolo hormonal (Amaral et al., 2008), situação observada neste experimento, nos animais dos grupos G2 e G3.

Tabela 1: Efeito do Escore de Condição Corporal (ECC) sobre as variáveis Diâmetro Folicular na Colocação (FOLC) e na Retirada (FOLR) do implante intravaginal de progesterona, área do corpo lúteo (CL) formado após o tratamento hormonal de vacas mestiças leiteiras.

Grupos	ECC*	N	FOLC (mm)	FOLR (mm)	CL (cm <sup>2</sup> )
G1	< 2,5	69	6,4 ± 1,4 <sup>C</sup>	7,2 ± 0,7 <sup>C</sup>	1,5 ± 0,3 <sup>C</sup>
G2	2,5	68	10,3 ± 0,7 <sup>B</sup>	9,4 ± 0,8 <sup>B</sup>	2,5 ± 0,5 <sup>B</sup>
G3	> 2,5	49	11,6 ± 1,2 <sup>A</sup>	10,1 ± 1,1 <sup>A</sup>	2,9 ± 0,6 <sup>A</sup>

<sup>A, B, C</sup> Médias, na mesma coluna, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de t Student.

\* ECC segundo Ferreira, 1990 (variando de 1= muito magra a 5 =gorda). G1 vacas com ECC menor que 2,5. G2 animais com ECC igual a 2,5. G3 animais com ECC acima de 2,5.

A diferença no diâmetro folicular do início do protocolo ao da retirado do implante, são justificadas por se tratar de uma nova onda de crescimento folicular. Neste contexto, Bó et al.(1991) observaram que a administração estrógeno no momento da inserção de um implante de progesterona resulta na regressão dos folículos presentes no momento do tratamento e na emergência de uma nova onda de crescimento folicular. De acordo com O'Rourke et al. (2000) e Burke et al. (2003) o estrógeno administrado na fase de dependência do folículo ao FSH atua em receptores da hipófise anterior, bloqueando a secreção de FSH. Esta condição provoca atresia dos folículos dependentes desta gonadotrofina. Dessa forma, a emergência de uma nova onda é iniciada entre três a cinco dias.

No presente experimento, o ECC das vacas apresentou correlação positiva e elevada com os diâmetros foliculares na colocação ( $P=0,0001$ ; 0,85) ou na retirada do implante ( $P=0,0001$ ; 0,75). As vacas mais magras do grupo G1 apresentaram folículos menores, enquanto que os animais dos grupos G2 e G3 apresentaram folículos maiores, provavelmente pela melhor condição metabólica desses animais. Sá Filho e Vasconcelos (2008) afirmam que a melhor condição metabólica é acompanhada pelo aumento gradativo do diâmetro do folículo dominante, tal como verificado nos grupos G2 e G3. Neste sentido, Bossis et al. (2000) relataram que vacas de melhor escore de condição corporal podem atender melhor suas exigências de lactação e também apresentam menor sensibilidade do hipotálamo ao *feedback* negativo do estradiol, aumentando gradativamente as concentrações sanguíneas de LH, insulina e IGF-I. Estes metabólitos e hormônios estimulam diretamente a capacidade esteroidogênica folicular e apresentam importante função na seleção e estabelecimento de dominância folicular. À medida que transcorre o período pós-parto, os estoques de LH hipofisários vão sendo restabelecidos, a concentração plasmática e a frequência de pulsos de LH aumentam linearmente e verifica-se que, a cada onda folicular, a taxa de crescimento, o diâmetro máximo e a persistência do folículo dominante vão se tornando cada vez maiores, até que ocorra a ovulação (Jolly et al., 1995).

Verificou-se que o diâmetro do folículo dominante, ao término do protocolo no D8, foi de 7,2mm; 9,4mm e 10,1mm para os grupos G1, G2 e G3 respectivamente. Estes resultados encontrados foram inferiores aos descritos

por Ayres et al. (2008) em vacas da raça nelore, os quais relatam diâmetros dos folículos dominantes de 12,1mm no momento da retirada no implante de progesterona. Os resultados do presente estudo foram ainda semelhantes aos encontrados por Colazo et al. (2003), de 10,8mm. No grupo G1, os animais apresentaram diâmetro folicular menor. Desta forma, a diferença no diâmetro folicular parece ser reflexo, dentre outros fatores, da condição corporal dos animais. Estudos demonstram que vacas de maior ECC apresentam melhor desempenho reprodutivo no pós-parto. A nutrição, o ECC ao parto, a presença de cria e a amamentação contribuem aditivamente na velocidade para o restabelecimento dos estoques e da secreção de LH (Williams, 1990). A maior mobilização das reservas corporais pode ampliar o intervalo do parto ao primeiro estro e ovulação, reduzindo as taxas de concepção e de prenhez, além de causar anestro (Williams, 2001).

No presente estudo observou-se correlação positiva entre o tamanho do folículo com o tamanho do corpo lúteo ( $P=0,0001$ ;  $0,62$ ) corroborando com os dados da literatura. Neste sentido, a ovulação de folículos de  $7,2 \pm 0,7$ mm de diâmetro (mensurados no D8), resultaram em corpos lúteos menores ( $1,5 \pm 0,3$ cm<sup>2</sup>), baixas taxas de ovulação (53,6%) e de prenhez (17,4%). A área luteal, sete dias após o estro, foi de 1,5; 2,5 e 2,9 cm<sup>2</sup>, para os grupos G1, G2 e G3. Os resultados do presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Amaral, (2009) que trabalhou com vacas Gir leiteiro em anestro pós-parto, encontrando valores variando de 1,6 a 2,2 cm<sup>2</sup>. No entanto, são inferiores aos descritos por Borges et al. (2003) com vacas Gir Leiteiro (2,8 a 4,8 cm<sup>2</sup>). Esta maior área encontrada por estes autores é justificável, tendo em vista que utilizaram animais ciclando.

O escore de condição corporal, número de animais por grupo experimental, taxa de ovulação e taxa de prenhez, após o protocolo hormonal estão apresentados na Tabela2.

Tabela 2: Efeitos do Escore de Condição Corporal (ECC) sobre a Taxa de Ovulação (TO) e Taxa de Prenhez (TP) de vacas mestiças leiteiras após o protocolo hormonal.

Grupos	ECC*	N	Taxa de Ovulação (%)	Taxa de Prenhez (%)
G1	< 2,5	69	53,6 <sup>B</sup>	14,4 <sup>B</sup>
G2	2,5	68	72,1 <sup>A</sup>	36,8 <sup>A</sup>
G3	> 2,5	49	79,6 <sup>A</sup>	40,8 <sup>A</sup>

<sup>A, B</sup> Médias, na mesma coluna, diferem entre si ( $P < 0,05$ ) pelo teste de  $\chi^2$

\*ECC segundo Ferreira, 1990 (variando de 1= muito magra a 5 =gorda). G1 vacas com ECC menor que 2,5. G2 animais com ECC igual a 2,5. G3 animais com ECC acima de 2,5.

A relação positiva entre o ECC e as taxas de ovulação e prenhez já é bastante conhecida e foi descrita por diversos autores (Bastos et al., 2004; Sá Filho et al., 2009). No presente experimento, o ECC apresentou correlação positiva e elevada com as taxas de ovulação ( $P=0,0001$ ; 0,55) e de prenhez ( $P=0,0001$ ; 0,70). Vacas com ECC igual ou superior a 2,5 (escala de 1 a 5) apresentaram maior taxa de ovulação ( $P < 0,05$ ) e taxa de prenhez ( $P < 0,05$ ), em relação às vacas com ECC menor que 2,5. Em um trabalho similar executado por Gottschall (2011) encontrou taxas de prenhez similares, 31%; 47% e 55% para animais com ECC menor que 2,5, ECC de 2,5 a 3,0 e ECC maior que 3,0, respectivamente. Neste contexto, Bastos et al. (2004) concluíram que vacas em baixa condição corporal e usualmente em balanço energético negativo apresentam menor frequência pulsátil de LH, o que afeta o tamanho final do folículo ovulatório. A influência do ECC na taxa de ovulação e prenhez, verificada no presente estudo, corrobora com Sá Filho et al. (2009) avaliando dados retrospectivos de mais de 64.000 IATF. Estes pesquisadores encontraram relação positiva entre a taxa de concepção à IATF e o ECC. Os autores afirmam que o ECC é um preditor confiável de probabilidade de prenhez, quando são utilizados protocolos hormonais para a IATF. Esses

resultados corroboram com os achados no presente estudo, sendo recomendada a utilização de protocolos em animais com bom ECC.

A relação positiva entre o diâmetro folicular e a taxa de ovulação já foi descrita por diversos autores (Castilho et al., 2007; Gimenes et al., 2008; Carvalho et al., 2008). No presente estudo observou-se que a taxa de ovulação foi de 53,6%; 72,1% e 79,6% para os respectivos grupos G1, G2 e G3, após a terapia hormonal. O resultado do grupo G1 foi inferior ( $P < 0,05$ ) aos encontrados nos grupos G2 e G3, os quais foram semelhantes entre si ( $P > 0,05$ ). As melhores respostas nos grupos G2 e G3, pode ser explicada pelo melhor ECC dos grupos, além dos diâmetros dos folículos dominantes superiores a 10mm, ao início do protocolo hormonal, o que confere aos animais melhor condição metabólica e hormonal (Ferreira, 1990), com melhor capacidade de resposta aos protocolos de IATF (Amaral et al., 2008). Os resultados encontrados foram semelhantes aos disponíveis na literatura, variando de 53% a 90% do total de animais, tanto *Bos taurus taurus* quanto em *Bos taurus indicus* e seus cruzamentos (Fike et al., 1997; Borges e Gregory, 2003; Ross et al., 2004; Barbosa et al., 2011).

A baixa taxa de ovulação do Grupo G1 (53,6%), pode ser explicada pela ausência de um folículo dominante responsivo aos sinais pré-ovulatórios no momento da indução ou, então, devido à não maturação do folículo dominante oriundo do tratamento hormonal (Burke et al., 2001). Sabe-se que as taxas de ovulação e gestação, após o tratamento hormonal, são superiores para animais que apresentam folículos dominantes com maiores diâmetros (Rhodes et al., 2003). Ainda de acordo com Burke et al. (2001), 50% das fêmeas que possuíam folículo de diâmetro de 9,0mm ovularam, contra 100% daquelas cujo o folículo possuía diâmetro de 13,8mm ao final do tratamento hormonal.

As taxas de prenhez foram de 17,4%, 36,8% e 40,8% para os respectivos grupos G1, G2 e G3. Verificou-se diferença ( $P < 0,05$ ) para esse parâmetro entre os grupos experimentais. Segundo os resultados deste estudo, os animais do G1 (vacas magras) apresentaram menores taxas de prenhez à IATF, ressaltando a importância do ECC sobre o resultado reprodutivo em rebanhos leiteiros. Estes dados estão de acordo com outras publicações em vacas leiteiras submetidas a protocolos de IATF (Souza et al., 2007). Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo, a taxa de

prenhez é menor quando os animais apresentam ECC abaixo de 2,5 (Moreira et al., 2000; Galvão et al., 2004; Souza et al., 2007).

Uma das causas desta baixa taxa de gestação nos animais do grupo G1 foi à reduzida taxa de ovulação (53,6%), quando comparada a ocorrida nos animais dos grupos G2 e G3 (72,1 e 70,6%, respectivamente). Adicionalmente, estes animais apresentaram pequenos corpos lúteos, os quais, segundo Bridges et al. (2004), são mais propensos a sofrer luteólise prematura. Além disto, vacas magras apresentam baixas concentrações de IGF-I, que também podem estar associadas a um desenvolvimento embrionário sub ótimo (Velazquez et al., 2005). Desta forma, em protocolos de IATF, a indução de ovulação de folículos imaturos e pequenos é indesejada, podendo ser responsáveis por menores taxas de prenhez (Perry et al., 2007).

Neste sentido, Souza (2008) trabalhando com vacas holandesas, verificou que a condição corporal dos animais afeta a taxa de concepção dos protocolos de IATF. O mesmo foi observado em pesquisas em vacas leiteiras de alta produção submetidas a IATF (Souza et al., 2007). Logo, o ECC ao início da terapia hormonal deve ser considerado, uma vez que a capacidade do tratamento hormonal em superar os efeitos causadores do anestro varia muito entre os animais (Fike et al., 1997).

No presente estudo observou-se correlação entre o tamanho do folículo e as taxas de ovulação ( $P=0,0001$ ; 0,82) e prenhez ( $P=0,0001$ ; 0,76), corroborando com os resultados da literatura (Castilho et al., 2007; Gimenes et al., 2008; Carvalho et al., 2008). Neste sentido, os folículos das vacas do grupo G1, tiveram média de  $7,2 \pm 0,7$ mm de diâmetro, no dia oito do protocolo (D8), resultando em baixas taxas de concepção (17,4%). Uma possível explicação para este resultado seria que os animais deste grupo sofriam restrição alimentar crônica, cuja a condição leva à redução do diâmetro do folículo dominante à medida que se acentua a perda de peso e de escore corporal. Isto se deve à redução das concentrações de leptina e IGF-I e aumento na secreção de neuropeptídeo-Y (Rhodes et al., 1995; Bossis et al., 1999; Stagg, 2000), até que se estabeleça o anestro, quando os animais perdem em média 17% (Hale, 1975) e 22 a 24% (Ferreira, 1990; Diskin et al., 2003) do peso vivo inicial. O retorno ao estro não ocorre até que haja recuperação do peso vivo a um patamar superior àquele quando iniciou o anestro (Hale, 1975; Ferreira,

1990; Diskin et al., 2003). Da mesma forma, baixas concentrações de IGF-I também podem estar associadas a um desenvolvimento embrionário sub ótimo (Velazquez et al., 2005).

De acordo como Drion et al. (2000), no anestro tipo I estão ausentes folículos grandes. É provável que este seja o tipo de anestro que predomina no Brasil, provocado por subnutrição, motivo porque não se podem extrapolar para o Brasil os resultados positivos obtidos em países com melhor condição de manejo nutricional, onde tratamentos hormonais induzem a ciclicidade em muitas vacas com anestro. Isto ocorre porque a quase totalidade do anestro em rebanhos bovinos de países desenvolvidos está relacionada a animais com presença de folículos maiores que 10mm (Ferreira, 2010).

Considerando todas as variáveis estudadas no presente experimento, os resultados inferiores observados nos animais com ECC menor que 2,5 (G1) ocorreram provavelmente devido ao baixo escore corporal, causado pela nutrição inadequada. Segundo Drion et al. (2000), vacas no início do pós-parto ou com baixo ECC não respondem a tratamento hormonal. Relatam ainda que corrigir o manejo é mais apropriado que o difundido uso de hormônios exógenos. Corroborando com estes autores Peter et al. (2009) concluem que preferem focar o aumento na fertilidade do animal ou do rebanho promovendo um bom manejo, do que contar com o difundido uso de hormônios exógenos.

## 5.0. CONCLUSÕES

O diâmetro folicular no início do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) influencia na posterior taxa de prenhez. Isto ressalta a importância da utilização da ultrassonografia na seleção de animais em anestro para o uso da IATF.

Vacas em anestro por subnutrição, com escore de condição corporal (ECC) menor que 2,5 (variando de 1 a 5) apresentam folículos pequenos e raramente folículo dominante de 6-7mm, em sua dinâmica ovariana.

A utilização de vacas de baixo ECC (menor que 2,5) em protocolos de IATF diminuem as taxas de ovulação e prenhez, em relação às vacas de melhor ECC.

## 6.0. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. P.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A.; MAPLETOFT, R. J.; GARCIA, A.; DEL CAMPO, M. R. Superstimulatory response of ovarian follicles of wave 1 versus wave 2 in heifers. *Theriogenology*, n 42, p. 1103-1113, 1994.

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

ADASHI, E.Y. Intraovarian regulation: the IGF-I example. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.4, p. 497-504, 1991.

ALVES, N.G; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D.; et al., 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.

AMARAL, T. F.; BORGES, Á. M., RUAS, J. R. M. et al. Influência do diâmetro do folículo dominante sobre a taxa de ovulação de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto. In: *Reunião Brasileira da Sociedade de Zootecnia*, 45, 2008, Lavras. *Anais da 45ª Reunião Brasileira da Sociedade de Zootecnia*, 2008.

Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA). Disponível em <<http://www.asbia.org.br/>> Acesso em junho 2013.

AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone releasing intravaginal device. *Animal Reproduction Science*, in press,2008.

BADINGA,L.; THATCHER,W.W.; WILCOX,C.J.; MORRIS,G.; ENTWISTLE,K.; WOLFENSON,D. Effect of season on follicular dynamics and plasma concentrations of estradiol-17 $\beta$ , progesterone and luteinizing hormone in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, v.42, n.1263-1274, 1994.

BAKER, S.J.; SPEARS, N. The role of intra-ovarian interactions in the regulation of follicle dominance. *Hum. Reprod. Update*, v.5, p.153-165, 1999.

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

BASTOS, G. M.; BRENNER, R. H.; WILLKE, F. H. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. *Theriogenology*, v.62, p.847-853, 2004.

BEAL, W. E. Application of knowledge about corpus luteum function in control of estrus and ovulation in cattle. *Theriogenology*, v.45, p.1399-1411, 1992.

BO,G.A.;MARTINEZ,M.; NASSER,L.F.; CACCIA,M.; TRIBULO,H.; MAPLETOFT,R.J. Follicular dynamics of *Bos indicus* and *Bos taurus* beef cattle under pasture conditions in Argentina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 10, 1993, Belo Horizonte, Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1993,v.2,p. 221.

BOOTH, N. H.; MCDONALD, L. E. *Farmacologia e Terapêutica em Veterinária*. Sexta edição, Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 927 p, 1992.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; ROCHA JÚNIOR, V. R. et al. Desenvolvimento folicular no pós-parto de vacas da raça Gir tratadas com acetato de buserelina (GnRH) ou gonadotrofina coriônica humana (hCG). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.1396-1404, 2004.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M. et al. Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas das raças Gir e Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.2, p.276-283, 2003.

BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; et al., Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu, *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, .vol.2001, n. 5, Belo Horizonte, 2001.

BORGES, J. B. Z.; GREGORY, R. M. Indução da atividade cíclica ovariana pós-parto em vacas de corte submetidas à interrupção temporária do aleitamento associada ou não ao tratamento com norgestomet-estradiol. *Ciência Rural*v.33, n.6, p.1105-1110, 2003.

BOSSIS, I.; WETTEMANN, R. P.; WELTY, S. D. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function preceding cessation of ovulation. *Journal of Animal Science*, v.77, p.1536-1546, 1999.

BOSSIS, J.; WETTEMANN, R.P.; WELTY, S.D. et al. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biology Reproduction*, v.62, p.1436-1444, 2000.

BRUNNER, M.A; DONALDSON, L.E.; HANSEL, W. – Exogenous hormones and luteal function in hysterectomized and intact heifers. *J. Dairy Sci.*, 52: 1849-54, 1969.

BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L.; BOLAND, M.P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Anim.Reprod. Sci.* 45, 13-28, 1996.

BURKE, C.R.; MUSSARD, C.L.; GASSER, D.E.; GRUM, D.E. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology* , Vol. 60, Issue 4 , Page 647, 2003.

BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E. et al. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Animal Reproduction Science*, v.66, p.161-174, 2001.

CARR, D. L.; SPITZER, J.C.; JENKINS, T. C.; BURNS, G. L.; PLYLER, B. B. Effects of dietary lipid supplementation on progesterone and reproductive performance in suckled beef cows. *Theriogenology*, v. 41, p. 423 – 435,1994.

CARVALHO, B. C.; RUAS, J. R. M.; SILVA FILHO, J. M. et al. Dinâmica folicular de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu (HZ) submetidas à indução da ovulação no pós-parto. In: *Reunião Anual da SBTE*, 21, 2007, Costa do Sauípe-BA. *Anais... Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, supl.3, p.1110, 2008.

CHALUPA, W; VECCHIARELLI, A; GALLIGAN, D.T.; et al. Responses of dairy cows supplemented with somatotropin during weeks 5 trough of lactation. *Journal Dairy Science*, v.79, p.800-812, 1997.

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

COSTA, D. S.; HENRY, M.; OLIVEIRA, B. C. B. V.; WRITE, C. R. Indução da luteólise nos primeiros dias do diestro em vacas zebu. *Reunião Anual da SBZ*, 37, Viçosa, MG, p. 197, *Anais ...*, UFV, SBZ, 2000.

COUTINHO, G.T.R.M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.; FERREIRA, A.M.; et al., Avaliação ultra-sonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça Guzará. *Arq. Brás. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.5, p.1089-1096, 2007.

DEL VECCHIO, R. P.; SUTHERLAND, W. D.; SASSER, R. G. Bovine luteal cell production in vitro of prostaglandin E2, oxytocin and progesterone in response

to pregnancy – specific protein B and prostaglandin F2 $\alpha$ . *Journal Reproduction Fertility*, v. 107, p. 131-136, 1996.

DÍAZ GONZÁLEZ, F.H. Efeito da condição corporal de novilhas sobre a fertilidade, o perfil metabólico pós-serviço e a sobrevivência embrionária. Viçosa-MG: UFV, 118p. Dissertação (Doutorado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1991.

DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; ROCHE, J.F.; SREENAN, J.M. Effects of nutrition and metabolic status on circulation hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.345-370, 2003.

DISKIN, N. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, n. 23, p. 211-218, 2002.

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

DRIANCOURT, M.A. Follicular dynamics in sheep and cattle. *Theriogenology* v. 35, n.1, p.55 - 71, 1991.

DRION, P.V.; BECKERS, J.F.; DERKENNE, F. et al. Le développement folliculaire chez la vache. 2. Mécanismes hormonaux ai cours du cycle et du post-partum. *Ann. Medicine Veterinaire*, v.144: p.385-404, 2000.

ESPEY, L. L.; Current status of the hipótesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biology Reproduction*, v. 50, p. 233-238, 1994.

FERGUSON, J. D. Diet, production and reproduction in dairy cows. *Animal Feeding Science Technology*, v. 59, p. 173-184, 1996.

FERNANDES,C.A.C. Efeito do tratamento com hormônio folículo estimulante (FSH) sobre a taxa de gestação de novilhas mestiças usadas como receptoras de embrião. Viçosa-MG: UFV, 63p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal de Viçosa, 1994.

FERREIRA, A. M. Informações pessoais. Embrapa Gado de Leite, 2003.

FERREIRA, A. M. Novos conceitos sobre o anestro pós-parto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: [s.n.] 1995, p.62- 70.

FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; COSTA, E. P. ; FERNANDES, C. A. C.; CAMARGO, L. S. A.; VIANA, J. H. M.; Corpo lúteo persistente associado a infecções uterinas em rebanhos leiteiros da Zona da Mata-MG.. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, Niterói-RJ (UFF), v. 7, n. 1, p. 25-28, 2000.

FERREIRA, A. M.; VIANA, J. H. M.; SÁ, W. F. et al. Restrição alimentar e atividade ovariana luteal cíclica pós-parto em vacas girolanda. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, p.2521-2528, 2000.

FERREIRA, A.M. Efeito da amamentação e do nível nutricional na atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras. UFV, Viçosa-MG, 1990. 132p. (Tese de Doutorado).

FERREIRA, A.M. Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia Aplicada e Problemas mais Comuns (Causas e Tratamentos). Ademir de Moraes Ferreira – Juiz de Fora, MG. Edição do Autor, 422p, 2010.

FERREIRA, A.M.; & TORRES, C.A.A. Perda de peso corporal e cessação da atividade ovariana luteínica cíclica em vacas mestiças leiteiras. Pesq. Agropec. Bras. v. 28, p. 411-418, 1993.

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

FIGUEIREDO,R.A.; BARROS,C.M.; ROCHA,G.P.; PAPA,F.O. Prevalência de duas ondas de crescimento folicular ovariano em vacas da raça Nelore. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, v.19, n.3-4,p.200-211,1995.

FIKE, K. E.; DAY, M. L.; INSKEEP, E. K. et al. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *Journal of Animal Science*, v.75, p.2009-2015, 1997.

FINDLAY,J.K.; DRUMMOND,A.E.; FRY,R.C. Intraovarian regulation of follicular development and ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* v.42, p. 321-331, 1996.

FORTUNE,J.E. Follicular dynamics during the bovine estrus cycle: a limiting factor in improvement of fertility? *Anim. Reprod. Sci.*, v. 33, p. 111-25,1993.

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

FORTUNE,J.E.; SIROIS,J.; TURZILLO,A.M.; LAVOIR, M. Follicle selection in domestic ruminants. *J. reprod. Fert., Suppl.*, v.43, p.187-198, 1991.

FUQUAY, J. W. Variable response of dairy heifers to estrous synchronization procedins. *Advanced Animal Breeder*, v. 31, n. 9, p. 14 e 15, 1983.

GARRETT, J.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.84, p.437-446, 1988.

GENGENBACH, D.R.; HIXON, J.E.; HANSEL, W. – A luteolytic interaction between estradiol and prostaglandin F<sub>2</sub> α in hysterectomized ewes. *Biol. Reprod.*, 16: 571-9, 1977.

GIMENES, L. U.; SÁ FILHO, M. F.; CARVALHO, N. A. T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.852-858, 2008.

GINTHER, O. J.; KASTELIC, J. P.; KNOFF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.*, v. 20, p. 187- 200, 1989.

GINTHER,O.J.; KNOFF,L.; KASTELIC,J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fert.*, v.87, p. 223-230, 1989.

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

GONÇALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, F. J. F. Biotécnicas aplicadas à Reprodução Animal – Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. Cap. 3, p. 25-55, Editora Varela, 640p., 2002.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T. A .; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian function in heifers: follicular populations and peripheral hormones. *Biol. Reprod.*, v. 45, n. , p. 941 - 49, 1991.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T. A.; WEBB, R. The effect of recombinant bovine somatotrophin on ovarian follicular growth and development in heifers. *J. Reprod. Fert.*, 97: 247-254, 1993b.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T. A.; WILMUT, I.; WEBB, R. Effect of recombinant bovine somatotrophin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. *Biology of Reproduction*, v. 48, n. , p. 1141 - 49, 1993a.

GONG, J.G.; McBRIDE, D.; BRAMLEY, T. A .; WEBB, R. Effects of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis in vitro. *Journal of Endocrinology*, v. 143, n. , p. 157 - 64, 1994.

GONG,J.G.; WEBB,R. Control of ovarian follicle development in domestic ruminants: its manipulation to increase ovulation rate and improve reproductive performance. *Anim. Breed. Abst.* v. 64, n.3, p.195-204, 1996.

GRYGAR, I.; KUDLÁČ, E.; DOLEZEF, R.; NEDBÁLKOVÁ, J. Volume of luteal tissue and concentration of serum progesterone in cows bearing homogeneous corpus luteum or corpus luteum cavity. *Anim. Reprod. Sci.*, v.49, p.77-82, 1997.

GUTTIERREZ, A. C.; ZARCO, L.; GALLINA, C. S.; RUBIO, I. Predictive value of palpation per rectum for detection of the Corpo Lúteo in zebu cattle as evaluated by progesterone concentrations and ultrasonography. *Theriogenology*, v. 46, p. 471-479, 1994.

HAFEZ, E.S.E.; Ciclos reprodutivos. In: HAFEZ, E.S.E. (Ed). *Reprodução Animal*. São Paulo: Manole, 7ed, p. 55-98, 2004.

HALE, D.H. Nutrition, hormone and fertility. *Rhodesian Agricultural Journal*,v.72, n.3, p.69-74, 1975.

HAMILTON, S.A; GARVERICK, H.A; KEISLER, D.H. et al. Characterization of ovarian follicular cystis and associated endocrine profiles in dairy cows. *Biology of Reproduction*, v.53, p.890-898, 1995.

HANLON, D.W.; JARRAT, G.M.; DAVIDSON, P.J. et al. The effect of hCG administration five days after insemination on the first service conception rate of anestrous dairy cows. *Theriogenology*, v. 63, p.1938-1945, 2005.

HANZEN, C.H.; LOURTTE, D.; DRION, O.V.; Le developement folliculaire dos la vache. Aspects morphologiques et cinetiques. Ann. Med. Vet., v. 144, p. 223-235, 2000.

HEUWIESER, W.; OLTENACU, P. A.; LEDNOR, A. J.; FOOTE, R. H. Evoluotion of diferente protocols for prostaglandin synchronization to improve reproductive performance in dairy herds with low estrus detection efficiency. Journal Dairy Science, v. 80, p. 2766-2774, 1997.

HEUWIESER, W.; TENHAGEN, B. A.; TISCHER, M.; LUHR, J.; BLUM, H. Effect of throe programmes for the treatment of endometrits on the reproductive performance of dairy herds. Veterinary Record, v. 146, p. 338-341, 2000.

IBGE. Censo agropecuário. Brasília: Estatística Agropecuária, 2012. Disponível em:  
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil/tabela1brasil.shtm>. Acesso 21/06/13.

IBGE. Censo agropecuário. Brasília: Estatística Agropecuária, 2013. Disponível em:  
<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil/tabela1brasil.shtm>. Acesso 21/06/13.

IRELAND, J.J.; MIHM, M.; AUSTIN, E.; DISKIN, M.G.; ROCHE, J.F.; Historial perpectives of turnover of dominat follicle during the cycle estrous: Key concepts, studies, advancements and terms. Journal Dairy Science, v. 83, p. 1648-1658, 2000.

JIMÉNEZ,F.; GALINA,C.S.; DUCHATEAU,A.; FIERRO-NAVARRO,R. Levels of LH, porgesterone and estradiol-17 $\beta$  during natural and PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  induced estrus in Indubrazil and Brown Swiss cows in the tropics. Anim. Reprod. Sci., v.16, p.199-206, 1988.

JOLLY, P.D.; McDOUGALL, S.; FITZ PATRICK, L.A.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, suppl. 49, p.477-492, 1995.

KAPPEL, L. C.; INGRAHAM, R. H.; MORGAN, E. B.; ZERINGUE, L.; WILSON, D.; BABCOCK, D. K. Relationship between fertility and blood glucose and cholesterol concentrations in Holstein cows. *Animal Journal Veterinary Research*, v. 45, p. 2607-2612, 1984.

KASTELIC, J. P.; GINTHER, O. J. Factores affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolisis. *Animal Reproduction Science*, n. 26, p. 13-24, 1991.

KASTELIC, J. P.; PIERSON, R. A.; GINTHER, O. J. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology*. V. 34, p.487-498, 1990.

KASTELIC, J.P. Understanding ovarian follicular development in cattle. *Vet. Med.*, v. , p. 64-71, 1994.

LAMB, G.C.; STEVENSON, J.S.; KESLER, D.J. et al. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F<sub>2α</sub> for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *Journal Animal Science*, v.79, p.2253-2259, 2001.

LUCK, M. R.; ZHAO, Y. Structural remodelling of reproductive tissues. *Journal Endocrinology*, v. 146, p. 191-195, 1995.

MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon- $\gamma$  production in the cow. *The Veterinary Journal*, v.171, p.500-503, 2006.

MAPLETOFT, R. J.; BO, G. A.; ADAMS, G. P. Avanços na manipulação de doadoras e receptoras nos programas de Transferência de Embriões em bovinos. Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, v. 28, n. 1, p. 24-51, 2000.

MCDUGALL, S.; BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L. et al. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. Research in Veterinary Science, v.58, p.212-216, 1995.

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

MILLER, H.V.; KIMSEY, P.B.; KENDRICK, J.W.; et al.: Endometritis of dairy cattle: Diagnosis, treatment and fertility. Bovine Pract 15:13, 1980.

MILVAE, R. A.; HINCKLEY, S. T; CARLSON, J. C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. Theriogenology, v. 45, p. 1327-1349, 1996.

MOMONT, H. W.; SEGUIN, B. E. Influence of the day of estrous cycle on response to the PGF<sub>2</sub> $\alpha$  products: Implications for AI programs for dairy cattle. Proceedings of the 10 th International Congress on Animal Reproduction, v. 3, p. 336, 1984.

MONNIAUX, D.; MONGET, P.; BESNARD, N.; HUET, N.; PISSELET, C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. Theriogenology, v.47, p. 3-12, 1997.

MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. Animal Reproduction Science, v.85, p.1-26, 2005.

MOREIRA, F.; RISCO, C.; PIRES, M.F. et al. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. Theriogenology, v.53, p.1305-1319, 2000.

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

NISWENDER, G. D.; JUENDEL, J. L.; MCGUIRE, W. J.; BELFIORE, C. J.; WILTBANK, M. C. Luteal function the estrous cycle and early pregnancy. *Biology Reproduction* ,v. 50, p. 239-247, 1994.

O'ROURKE, M.; DISKIN, M.; GREENAN, J.M.; ROCHE, J.F. The effect of dose and method of oestradiol administration on plasma concentration of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Anim.Reprod.Sci.*, 59, 1-12, 2000.

OLIVEIRA, M. M. N. F. Dinâmica folicular ovariana e características reprodutivas de vacas leiteiras no pós-parto após tratamentos com buserelina e cloprostenol. Viçosa, MG: UFV, 1997.63p.Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 1997.

OLIVEIRA,F.N. Concentrações sangüíneas de progesterona e metabólitos lipídicos em novilhas tratadas com Norgestomet e Valerato de estradiol (Syncro-Mate B) e submetidas à dieta hiperlipidêmica. Viçosa, MG. 75 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1995.

PAISLEY, L.G. et al., Mechanism and therapy for retained fetal membranes and uterine infections in the cow. *Theriogenology*, 25:353-381, 1986.

PARKINSON, T. J.; TURVEY, A.; JENNER, L. J. A morphometric analysis of the corpus luteum of cow during the estrous cycle and early pregnancy. *Theriogenology*, v. 41, p. 1115-1126, 1994.

PETER, A.T.; VOS, P.L.A.M.; AMBROSE, D.J. Postpartum anestrus in dairy cattle - Review. *Theriogenology*, v.71, n.9, p.1333-1342, 2009.

PIERSON,R.A.; GINTHER,O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, v. 29, n.1, p. 21-37, 1988.

PRATT,S.L.; SPITZER, J.C.; BURNS, G.L.; PLYLER, B.B; Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. *J. Anim. Sci.*; 69, 2721-2726, 1991.

RHODES, F. M.; FITZPATRICK, L. A.; ENTWISTLE, K. W. et al. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.104, n.1, p.41-49, 1995.

RHODES, F. M.; MCDOUGALL, S.; BURKE, C. R. et al. Invited Review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p.1876-1894, 2003.

RHODES, R.C.; RANDEL, R.D.; LONG, C.R. Corpus luteum function in the bovine: in vivo and in vitro evidence for both a seasonal and breedtype effect. *J. Anim. Sci.*, v.55, p.159-167, 1982.

RIBADU, A.Y.; WARD, W.R.; DOBSON, H. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography, and plasma progesterone concentrations. *Vet. Rec.*, v.135, p.425-457, 1994.

ROSS, P. J.; ALLER, J. F.; CALLEJAS, S. S. et al. Estradiol benzoate given 0 or 24 h after the end of a progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. *Theriogenology*, v.62, p.265-273, 2004.

SÁ FILHO, O. G. e VASCONCELOS, J. L. M. Fatores que alteram a dinâmica das ondas foliculares e seus impactos na fertilidade de fêmeas bovinas. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.36, supl.2, p.s409- s432, 2008.

SÁ FILHO, O.G.; VILELA, E.R.; GEARY, T.W. et al. Strategies to improve fertility in postpartum multiparous *Bos indicus* cows submitted to a fixed-time

insemination protocol with gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2alpha. *Journal of Animal Science*, v.87, p.2806-2814, 2009.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002, 265p

SANTOS, J.C.; Dinâmica follicular em bovinos da raça Gir no inverno e no verão. 2001.38f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ.

SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L.; de La SOTA, R.L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows. *J. Reprod. Fert.*, v.97, p.197-203, 1992.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v. 83, p. 663-671, 1988.

SCHAMS, D. Paracrine / autocrine regulation of bovine corpus luteum function. *Journal Reproduction Development*, v. 42 (Suppl.), p. 54-57, 1996.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol. Reprod.*, v.39, n.2, p.308-317, 1988.

SISTEMA DE ANÁLISE ESTATÍSTICA E GENÉTICA (SAEG), UFV, Central de processamento de dados, Viçosa- M.G., 1999.

SMITH, M. F.; MCINTUSH, E. W.; SMITH, G. W. Mechanisms associated with corpus luteum development. *Journal Animal Science*, v. 72, p. 1857-1872, 1994.

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

STAPLES, C. R.; BURKER, J. M.; THATCHER, W. W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. *Journal Dairy Science*, v. 81, p. 856-871, 1998.

STELLFLUG, J.N.; LOUIS, T.M.; GOREWIT, R.C.; OXENDER, W.D.; HAFS, H.D.- Luteolysis induced by prostaglandin F2 before and after hysterectomy in heifers. *Biol. Reprod.*, 17:535-40, 1977.

TAYLOR, C.; RAJAMAHENDRAN, R. Follicular dynamics, corpus luteum growth and regression in lactating dairy cattle. *Canadian Journal of Animal Science*, Ottawa, v.71, n.1, p.61-68, 1991.

THOMPSON, K.E.; STEVENSON, J.S.; LAMB, G.C. et al. Follicular, hormonal and pregnancy responses of early postpartum suckled beef cows to GnRH, norgestomet and PGF2 $\alpha$ . *Journal Animal Science*, v.77, n.7, p.1823-1832, 1999.

TOM, J. W.; PIERSON, R. A.; ADAMS, G. P. Quantitative echotexture analyses of bovine corpora lutea. *Theriogenology*, v. 49, p. 1345-1352, 1998.

VACA, L.A.; GALINA, C.; FERNÁNDEZ-BACA, S.; ESCOBAR, J.; RAMÍREZ, B. Progesterone levels and relationship with the diagnosis of a corpus luteum by rectal palpation during the estrous cycle in zebu cows. *Theriogenology*, v.20, n.1, p.67-76, 1983.

VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; ROSA, G. J. M. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning of different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.52, p.1067-1078, 1999.

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

VELAZQUEZ, M.A.; NEWMAN, M.; CHRISTIE, M.F. et al. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor-1 as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program. *Theriogenology*, v.64, p.1977-1994, 2005.

VIANA, J. H. M.; FERREIRA, A. M.; SÁ, W. F.; CAMARGO, L. S. A. Função luteal em vacas da raça Gir. XVI Encontro de Pesquisa da UFMG, Anais ..., p. 49, 1998.

VIANA, J. H. M.; TORRES, C. A. A.; FERNANDES, C. A. C.; FERREIRA, A. M. Avaliação ultrassonográfica do corpo lúteo em novilhas mestiças utilizadas como receptoras embrião. *Arquivo Reprodução Animal*, v. 5, p. 42-47, 1998.

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in Zebu cattle. *Pesq. Agrop. Bras. Brasília*, v.35, n.12, p.2501-2509, dez.2000.

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Regressão luteal e dinâmica folicular após a luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.51, n.3, p.257-262, 1999.

VILLA-GODOY, A.; HUGHES, T. L.; EMERY, R. S.; CHAPIN, L. T.; FOGWEEL, R. J. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cattle. *Journal Dairy Science*, V. 71, p. 1063-1072, 1988.

WATTS, T. L.; FUQUAY, J. W. Age of the corpus luteum as possible limiting factor in prostaglandin F<sub>2α</sub> induced cycle synchronization. *Journal Animal Science*, v. 55, Suplem. 1, p. 73, 1982.

WATTS, T. L.; FUQUAY, J. W. Response and fertility of dairy following injection with prostaglandin F<sub>2α</sub> during early, middle or late diestrus. *Theriogenology*, v. 23 n. 4, p. 655-661, 1985.

WESTFAHL, P. K. Comparison of luteinized unruptured follicles and corpora lutea: steroid hormone production and response to luteolytic and luteotropic agents. *Biology Reproduction*, v. 48, p. 807-817, 1993.

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

WILLIAMS, G.L. Implicações da amamentação e manejo da cria na eficiência reprodutiva futura de vacas de corte. V Curso Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, *Anais...*,p.65-73, 2001.

WILLIAMS, E.J.; FISCHER, D.P.; PFEIFER, D.U.; ENGLAND, G.C.W.; NOAKES, D.E.; DOBSON, H.; SHELDON, M., Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology*, v. 63, 2005, p. 102-117.

WILTABANK, M. C. Cell types and hormonal mechanisms associated with mid cycle corpus luteum function. *Journal Animal Science*, v. 72, p. 1873-1883, 1994.

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

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

WILTBANK, M. C.; GALLAGHER, K. P.; CHRISTENSEN, A. K., BRABEC, P. K; KEYES, P. L. Physiological and immunocytochemical evidence for a new concept of blood for regulation in the corpus luteum. *Biology Reproduction*, v. 42, p. 139-149, 2000.

WILTBANK, M. C.; NIESWENDER, G. D. Functional aspects of differentiation and degeneration of the steroidogenic cells of the corpus luteum in domestic ruminants. *Animal Reproduction Science*, v. 28, p. 103-110, 1992.

WILTBANK, M. C.; PURLEY,R.; SILCOX, R. *Novos Enfoques na Reprodução de Bovinos*, I, Passos, MG, 1995.

WILTBANK, M.C.; LOPEZ, H.; GUMEN, A. *Novos estudos sobre cistos foliculares e outras condições anovulatórias. VIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos*, Conapec Jr./UNESP-Botucatu-SP, Uberlândia/MG, p.51-56, 2004.