

MARCELO MILAGRES ROSADO

**USO DE PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO DE
RECEPTORAS MISTIÇAS INOVULADAS COM EMBRIÕES
PRODUZIDOS “in vitro”**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010

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

T

R788u
2010

Rosado, Marcelo Milagres, 1977-

 Uso de protocolo de sincronização de estro em receptoras
 mestiças inovuladas com embriões produzidos *in vitro* /
Marcelo Milagres Rosado. – Viçosa, MG, 2010.
 xviii, 112f. : il. ; 29cm.

 Orientador: José Domingos Guimarães.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
 Inclui bibliografia.

 1. Bovino - Reprodução. 2. Bovino - Melhoramento genético.
 3. Bovino - Transferência de embriões. 4. Transferência de
 embriões. 5. Fertilização *in vitro*. 6. Reprodução animal.
 7. Progesterona. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

 CDD 22. ed. 636.2082

MARCELO MILAGRES ROSADO

**USO DE PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO DE
RECEPTORAS MISTIÇAS INOVULADAS COM EMBRIÕES
PRODUZIDOS “in vitro”**

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

APROVADA: 07 de abril de 2010.

Prof. Eduardo Paulino da Costa
(Co- orientador)

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres

Prof. Tarcízio Antonio Rego de Paula

Dr. Claudio José Borela Espeschit

Prof. José Domingos Guimarães
(Orientador)

Porque todos deixaram o que tinham em abundância;
esta, porém, pôs da sua indigência,
tudo o que tinha para o seu sustento.
(Marcos 12, 44)

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Mauro e Terezinha,
por ser o meu suporte no momento exato,
pelos exemplos de vida e pelo imenso amor e carinho.

AGRADECIMENTO

A Deus, por se fazer perto, mesmo quando me coloco longe.

A Universidade Federal de Viçosa, pela acolhida através do Departamento de Veterinária.

Ao meu orientador Prof. José Domingos (JD), por toda a boa vontade, disponibilidade e profissionalismo.

Ao Cenatte Embriões por todo o suporte técnico e financeiro, sem o qual esse trabalho não seria realizado.

As minhas irmãs, Kátia por ajudar de perto e Angela por interceder de longe.

A Letícia, por todo o apoio, dedicação e carinho, te adoro preta!

Ao meu tio Custódio pelas inúmeras caronas e pela grande amizade.

Aos amigos e colegas do mestrado e doutorado: Fabiana Zambrini a amiga certa das horas incertas, Polyana, Sanely, Katerin, Bruno, Bruna, Paulo, Lucas e Rogério.

A todos os funcionários do Cenatte: Ao Sergio por todo suporte técnico e pela amizade, Múcio, Heraldo, Wilson (Veio), Maria Célia, por apostar na seriedade do meu trabalho. A Fabiana, Rosangela, Natália, Mirele, Ludmila, Michele, Andreza, Andreia, Luana, Marcus Fabricio e Mauricio, essa equipe maravilhosa que pacientemente cooperou de forma efetiva para a coleta e processamento desses dados, sou imensamente grato! Aos veterinários e técnicos: Mauro, Junior, Sebastião, Henrique, Marcelo Lima, Claudio Brandão, Leandro, Thiago, Renan, Felipe, Alexandre (Danilim), Klenio, Roney, Leonan. Ao povo da esterilização o Reinaldo, Chiquinho e a Beth. As secretarias e recepcionistas: Mariana, Tatiane e Angelita. As meninas da Nutrian, Nuna, Amanda e Izanete. Aos funcionários das centrais: Fernanda, Ezio, Edmar (gainho) Alex, Zezinho, Ana, Sinval, Clodoaldo, Farias e Haroldo. Aos funcionários do laboratório João, Robert, José Alexandre, Altieres, Rafael, Carlinhos e Heverton. As funcionárias da limpeza: Fatinha, Eunice, e Nilza. Ao Cristiano da estrutura, aos funcionários da Financeira: Simone, Mayara,

Isabela, Vanessa, Carolina, Rafael. E ao comercial: Claudio Lara, Beto e Gustavo. Pela forma que fui recebido e tratado nessa família Cenatte.
A Rose da Secretaria da Pós-Graduação, obrigado pelo cuidado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Ciclo estral	2
2.1.1 Dinâmica Folicular.....	2
2.1.2 Atividade do Corpo Lúteo.....	3
2.1.3 Formação de corpo lúteo acessório.....	6
2.1.4 Esteroidogênese.....	7
2.2 Sincronização de estro e ovulação de receptoras bovinas	10
2.2.1 Uso de PGF2 α na sincronização de estro.....	11
2.2.1.1 Aplicação de PGF2 α no momento da retirada do dispositivo intravaginal..	12
2.2.2 Eficiência do protocolo com PGF2 α x Implante de P4.....	13
2.2.3 Uso de Benzoato de estradiol (BE) associado ao dispositivo intravaginal de progesterona (P4).....	15
2.2.4 Uso de Benzoato de estradiol (BE) ou Cipionato de estradiol (CE) no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P4.....	17
2.2.5 Uso do dispositivo intravaginal associado ao ECG.....	18
2.2.6 Número de dispositivo intravaginal de P4.....	21
2.3 Receptoras para TE de FIV	22
2.3.1 A seleção das receptoras.....	22
2.3.2 A sincronização das receptoras.....	23
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

CAPITULO I: TAXA DE APROVEITAMENTO EM RECEPTORAS BOVINAS DE EMBRIÃO PRODUZIDO *IN VITRO* (PIV), SUBMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO

RESUMO	35
ABSTRACT	37
1. INTRODUÇÃO	39
2. MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 Local e seleção das receptoras.....	40
2.2 Tratamentos.....	40
2.3 Análises estatísticas.....	42
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	44
4. CONCLUSÕES	70
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

CAPITULO II: TAXA DE PRENHEZ EM RECEPTORAS BOVINAS DE EMBRIÃO PRODUZIDO *IN VITRO* (PIV), SUBMETIDAS A DIFERENTES PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DE ESTRO.

RESUMO	74
ABSTRACT	76
1. INTRODUÇÃO	78
2. MATERIAL E MÉTODOS	79
2.1 Local e seleção das receptoras.....	79
2.2 Tratamentos.....	79
2.3 Preparação da receptora e transferência do embrião.....	81
2.4 Classificação embrionária.....	84
2.5 Análises estatísticas.....	84
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	85
4. CONCLUSÕES	107
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1	35
Tabela 1 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com o tipo de protocolo de sincronização de estro.....	44
Tabela 2 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (IEPROT).....	48
Tabela 3 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões, de acordo com as classes de intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (CLAPROT).....	49
Tabela 4 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV de acordo com as classes de intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo (CLAPROT) e nas categorias novilhas e vacas.....	50
Tabela 5 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV de acordo com a classe de intervalo do estro a colocação do implante (CLAPROT), e tipo de protocolo de sincronização de estro.....	52
Tabela 6 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com a classificação uterina, e o tipo de protocolo de sincronização de estro.....	56
Tabela 7 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com a classificação ovariana e o tipo de protocolo de sincronização de estro.....	59
Tabela 8 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com número de utilização do dispositivo intravaginal e o tipo de protocolo de sincronização de estro.....	64
Tabela 9 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com o estado reprodutivo e tipo de protocolo de sincronização de estro...	66
Tabela 10 : Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com o número de aplicações de PGF2 α no histórico, e tipo de protocolo de sincronização de estro.....	67

Tabela 11: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com o número de aplicações de PGF2 α no histórico, e tipo de protocolo de sincronização de estro.....	69
CAPÍTULO 2.....	74
Tabela 1: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de FIV, em relação ao total de fêmeas inovuladas e protocoladas, de acordo com tipo de protocolo de sincronização de estro.....	85
Tabela 2 : Taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com classificação embrionária e protocolos de sincronização de estro.....	91
Tabela 3: Taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com o número de utilização do dispositivo intravaginal e tipo de protocolo de sincronização do estro.....	93
Tabela 4: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com a sincronia das receptoras e doadoras, categorias de fêmeas e tipos de protocolo de sincronização de estro.....	96
Tabela 5: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com período experimental e tipo de protocolos de sincronização de estro.....	99
Tabela 6: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com a classificação ovariana e o tipo de protocolo de sincronização de estro....	100
Tabela 7: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com a classificação uterina, e o tipo de protocolo de sincronização de estro.....	103
Tabela 8: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com a classe de intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (CLAPROT) e tipos de protocolos de sincronização do estro.....	105
Tabela 9: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de FIV, de acordo com intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (IEPROT) e tipos de protocolos de sincronização do estro.....	106

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Esquemas dos diferentes protocolos de sincronização do estro.....43

Capítulo 2

Figura 1: Esquemas dos diferentes protocolos de sincronização do estro.....83

RESUMO

ROSADO, Marcelo Milagres, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Abril de 2010. **Uso de protocolo de sincronização de estro em receptoras mestiças inovuladas com embriões *in vitro*.** Orientador: José Domingos Guimarães; Coorientadores: Eduardo Paulino da Costa e João Henrique Moreira Viana.

Com o objetivo de estudar o efeito de diferentes protocolos de sincronização de estro (Uso de cloprostenol no momento da colocação do implante intravaginal e sua permanência por período de oito e nove dias) sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*, inovuladas com embriões de PIV, o presente estudo utilizou 1933 receptoras (3.649 tratamentos) divididas em 6 protocolos. No protocolo 1, as receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol (BE) e 500 µg de cloprostenol, e um dispositivo intravaginal (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal cada receptora recebeu uma dose única de 0,5 mg de Cipionato de estradiol (CE), 500 µg de Cloprostenol e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). No protocolo 2, as receptoras receberam o mesmo tratamento que o primeiro grupo, porém sem a dose de 500 µg de Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No protocolo 3, as receptoras receberam no momento da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona uma dose única de 500 µg de Cloprostenol e 2,0 mg de BE, sendo que o dispositivo permaneceu por 9 dias. Dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal (dia 7) as fêmeas receberam uma dose única de 500 µg de Cloprostenol, e no momento da retirada do implante, receberam uma dose única de 0,5 mg de CE e 400 UI de eCG. No protocolo 4, as receptoras receberam o mesmo tratamento que o protocolo 3, porém sem Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No protocolo 5, as receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, e um dispositivo intravaginal de progesterona por 9 dias. Dois dias antes da retirada, no dia 7, receberam 500 µg de Cloprostenol e no momento da retirada do implante 0,5mg de CE e 300 UI de eCG. No protocolo 6, as receptoras receberam 2,0 mg de BE, e um dispositivo intravaginal de progesterona que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo

intravaginal, cada receptora recebeu 0,5 mg de CE, 500 µg de Cloprostenol e 300 UI de eCG. Todas as receptoras que apresentaram corpo lúteo foram inovuladas em média 10 dias após a retirada do dispositivo, ou seja, por volta de 8 dias após estro; e avaliadas por meio de ultrassonografia aos 58 dias após inovulação para o diagnóstico de gestação. Os dados foram submetidos a análises estatísticas descritivas (distribuição de freqüência) e os dados qualitativos foram arranjados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de qui-quadrado a 5 % de probabilidade de erro. As receptoras do quarto protocolo apresentaram as melhores ($p < 0,05$) taxas de aproveitamento (84,9%). No entanto, o número de tratamentos realizados ($n=86$) para o protocolo 4 foi reduzido em relação aos demais protocolos, mais estudos tornam-se necessários para confirmar a eficácia desse protocolo. Receptoras que receberam PGF 2α 48 horas antes da retirada do dispositivo apresentaram melhores índices de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$) e as fêmeas do protocolo 4 apresentaram melhores índices de prenhez ($p < 0,05$). As receptoras que apresentaram estro em período superior a 91 dias antes da colocação do dispositivo apresentaram piores taxas de aproveitamento que receptoras que apresentaram estro mais recente ($p < 0,05$). Apesar de algumas particularidades das receptoras que apresentaram estro em período inferior a 16 dias, o intervalo dia do estro a colocação do implante não influenciou positivamente nessas avaliações ($p > 0,05$). O útero classificado como normal no protocolo 4 foi o que apresentou melhores valores percentuais de taxa de aproveitamento e de prenhez em relação aos valores dos demais protocolos ($p < 0,05$). Entretanto, comparando todos os protocolos, o útero classificado como flácido apresentou melhores respostas de aproveitamento de receptoras ($p > 0,05$) e a classificação uterina não influenciou a taxa de prenhez ($p > 0,05$). Quanto a atividade ovariana, a presença do CL influenciou na taxa de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$), já a presença de folículos só interferiu na taxa de prenhez dos animais do protocolo 4 ($p < 0,05$). O número de utilização do dispositivo não influenciou na taxa de aproveitamento de receptoras e na taxa de prenhez ($p > 0,05$). O status reprodutivo e o número de protocolo no histórico não interferiram na taxa de aproveitamento de receptoras ($p > 0,05$). No entanto,

receptoras que não receberam PGF2 α antes da colocação do dispositivo intravaginal, apresentaram melhores resultados que as receptoras que receberam PGF2 α ($p < 0,05$). As receptoras que foram inovuladas com blastocisto expandido apresentaram melhores taxas de prenhez do que as receptoras que foram inovuladas com blastocisto ($p < 0,05$). Não houve diferença nas categorias vacas e novilhas na sincronia do estro receptora doadora, em relação à taxa de prenhez ($P > 0,05$). Não houve influência da época experimental sobre a taxa de prenhez ($p > 0,05$). Os protocolos que empregaram PGF2 α 48 horas antes da retirada apresentaram melhores taxas de aproveitamento de receptoras do que os protocolos em que as aplicações foram feitas no momento da retirada do dispositivo intravaginal ($p < 0,05$). As receptoras do protocolo 4 apresentaram melhores taxas de prenhez, embora tenha sido um grupo de baixo número de animais. Os protocolos utilizados interferiram na taxa de aproveitamento de receptoras, sendo que, as aplicações de PGF2 α 48 horas antes da retirada do dispositivo intravaginal, resultaram em melhores respostas de sincronização de estro, sendo a resposta mais acentuada quando as fêmeas estavam cíclicas na ocasião do início das sincronizações; Os intervalos do último estro à colocação do dispositivo intravaginal superiores a 90 dias (anestro) influenciam negativamente as respostas aos protocolos de sincronização de estro de ovulação. No entanto, as classes de intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal (CLAPROT), as co-variáveis estudadas não apresentaram efeito marcante sobre a resposta de aproveitamento de receptoras; As categorias de fêmeas (vacas e novilhas) não influenciam a respostas aos tratamentos de sincronização de estro ($p > 0,05$), embora novilhas na fase pré-puberal são menos responsivas a aplicação de PGF2 α no início do protocolo. Independente da categoria de fêmeas, a presença do corpo lúteo e tonicidade uterina flácida no momento da colocação do dispositivo intravaginal mostraram-se positivamente relacionado à resposta de aproveitamento de receptoras; A reutilização de dispositivo intravaginal não apresenta influência sobre a taxa de aproveitamento e prenhez em receptoras de embriões; Fêmeas com históricos prévios de uso de protocolos de sincronização com uso de PGF2 α a apresentam-se menos responsáveis a novos protocolos de

sincronização, embora não apresentam o mesmo comportamento com relação aos protocolos com progestagenos associado a PGF2 α .

Palavras-chaves: Bovinos, Transferência de Embriões, PIV, CIDR

ABSTRACT

ROSADO, Marcelo Milagres, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April , 2010. **Use of estrus synchronization protocol in crossbred recipients ovulated with embryos in vitro.** Adviser: José Domingos Guimarães; Co- Adviser: Eduardo Paulino da Costa e João Henrique Moreira Viana.

Aiming to study the effect of different estrus synchronization protocols on the pregnancy rate in *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* recipient cattles, transferred with in vitro produced embryos, this study used 1,933 recipients (3,649 treatments) divided into 6 groups. In the first group, recipients received 2.0 mg of estradiol benzoate (EB) and 500 mg of cloprostenol, in addition to an intravaginal device (1.9 g of progesterone) that remained for 8 days. Upon withdrawal of the intravaginal device each recipient received a single dose of 0.5 mg of estradiol cypionate (EC), 500 mg of cloprostenol and 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG). In the second group, recipients received the same treatment as the first group, but without the 500 mg dose of cloprostenol at the placement of the progesterone intravaginal device. In the third group, recipients received at the time of intravaginal progesterone device placement a single dose of 500 mg cloprostenol and 2.0 mg of EB, and the device remained for 9 days. Two days before the intravaginal device removal (day 7) females received a single dose of 500 mg cloprostenol, and at the time of device removal, received a single dose of 0.5 mg of EC and 400 IU of eCG. In the fourth group, the recipients received the same treatment as the third group, but without cloprostenol in the intravaginal progesterone device placement. In the fifth group, recipients received 2.0 mg of EB, and an intravaginal progesterone device that remained for 8 days. Upon withdrawal of the intravaginal device, each recipient received 0.5 mg of EC, 500 mg of cloprostenol and 300 IU of eCG. In the sixth group, recipients received 2.0 mg of EB and an intravaginal progesterone device for 9 days. Two days before the withdrawal, (day 7), received 500 mg of cloprostenol and at the time of device removal received 0.5 mg of EC and 300 IU of eCG. All recipients that had corpus luteum were transferred on average 10 days after implant removal, in other words, about 8 days after estrus, and evaluated by ultrasonography 58 days after embryo

transfer to pregnancy diagnosis. Data were subjected to descriptive statistics analysis (means, standard deviations and frequency distribution) and qualitative data were arranged in contingency tables and analyzed by chi-square at 5% of probability. Fourth group showed the best recovery rates (84.9%). However, the number of treatments performed (n=86) in group 4 was reduced in comparison with other protocols. Recipients who received Prostaglandin F2 α (PGF2 α) 48 hours before device removal showed better recovery rates than others and protocol 4 females had better pregnancy rates. The recipients that were in estrus longer than 91 days before device placing had worse recovery rates than recipients in estrus earlier ($p < 0.05$), although did not influence pregnancy rate ($p > 0.05$). Despite some recipients peculiarities who presented estrus less than 16 days, the interval from estrus day to device placement did not influence positively these assessments ($p > 0.05$). The uterus classified as normal in protocol 4 showed the best percentages of recovering and pregnancy rates ($p < 0.05$) compared to the values of other protocols. However, comparing all protocols, the uterus classified as flaccid showed better recovery responses and classification did not influence uterine pregnancy rate. As the ovarian activity, the presence of corpus luteum influenced recipients recovery rates ($p < 0.05$), whereas the follicles presence only interfered with the pregnancy rate of protocol 4 animals ($p < 0.05$). The number of uses of the device did not influence the recipients recovery pregnancy rates ($p > 0.05$). The reproductive status and protocol number in the history did not affect the recipients recovery rate ($p > 0.05$). However, recipients who did not received PGF2 α before intravaginal device placing, had better results than those who received ($p < 0.05$). The recipients which were transferred with expanded blastocyst had better pregnancy rates than they which were transferred with blastocyst ($p < 0.05$). No differences were found in the cow and heifer categories in recipient donor estrus synchrony in relation to pregnancy rate ($p > 0.05$). No influence of the time trial on the pregnancy rate ($p > 0.05$). The protocols which employed PGF2 α 48 hours before the withdrawal had better recipients recovery rates than the protocols that applications were made on intravaginal device removal ($p < 0.05$). Protocol 4 recipients had higher pregnancy rates, although it was a group of low numbers of

animals. The used protocols interfered with the recipients recovery rate, and the applications of PGF2 α 48 hours before intravaginal device removal, resulted in improved estrus synchronization responses, so the answer was more pronounced when females were cyclical in occasion of the beginning of synchronization; intervals from the last estrus to intravaginal device placement over 90 days (anestrus) influence negatively the responses to estrus and ovulation synchronization protocols. However, the classes of interval from estrus to intravaginal device placement (CLAPROT), the covariates showed no marked effect on the recipients recovery response; The female categories (cows and heifers) did not influence the responses to estrus synchronization treatments, although heifers in the pre-puberty are less responsive to PGF2 α application in the beginning of the protocol. Regardless of the females category, the presence of the corpus luteum and flaccid uterine tone at the time of intravaginal device placement proved to be positively related to the recipients recovery response; Reusing intravaginal device has no influence on the recovery and pregnancy rates in embryo recipients; Females with histories of prior use of synchronization protocols with the use of PGF2 α become less responsive to new synchronization protocols, while not presenting the same behavior with respect to protocols with progesterone associated with PGF2 α .

Keywords: Cattle, CIDR[®], embryo transfer, in vitro fertilization

INTRODUÇÃO GERAL

Em todo o mundo, mais de 670.000 embriões produzidos *in vivo* foram inovulados, sendo que a metade foi inovulados a fresco e metade pós-descongelados. Adicionalmente, cerca de 292.000 embriões produzidos *in vitro* (PIV) foram transferidos no mesmo ano, dos quais a maioria (75%) foi transferida a fresco (THIBIER, 2005).

Entre os países que empregam esta biotecnologia nos últimos anos, o Brasil tem se destacado pelo grande número de transferências de embriões produzidos tanto *in vivo* (TE) quanto *in vitro* (PIV), contribuindo com quase 50% do total de embriões produzidos no mundo. No Brasil e em outros países tropicais existe uma demanda crescente para multiplicar material genético, tanto de fêmeas zebuínas quanto de taurinas. Entretanto, existem importantes diferenças na fisiologia e no comportamento reprodutivo entre estas subespécies, as quais podem interferir na eficiência dos programas de superovulação e transferência de embriões.

A taxa de aproveitamento de receptoras (protocoladas/inovuladas) e taxa de prenhez (prenhez/inovuladas) com embriões de PIV varia de 61,3 a 70% e 36,9 a 41%, respectivamente (BÓ et al.2004; BORSATO et al, 2005b). Alguns estudos têm demonstrado a importância da seleção e estatus reprodutivo das fêmeas nesse processo e dos vários protocolos, tanto para IATF (MARTINS et al. 2005; PENTEADO et al, 2005) quanto para TETF (BÓ et al, 2004; FERREIRA et al, 2006). Estudos recentes têm sido desenvolvidos para avaliar o taxa de prenhez nas receptoras inovuladas por PIV e a influência da receptora no processo.

O objetivo desse estudo foi verificar a taxa de aproveitamento de receptoras e a taxa de prenhez de fêmeas com estro sincronizado com protocolos de 8 e 9 dias de exposição a progesterona exógena e diferentes momentos da aplicação de prostaglandina e doses de eCG.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ciclo estral

Segundo Gonsalves (2001) a duração média do ciclo estral de vacas é de 21 dias quando mantidas em condições ambientais adequadas, sendo o mesmo dividido em proestro (3 dias), estro (18 horas), metaestro (2-3 dias) e diestro, (14 dias).

O ciclo estral é regulado por mecanismos endócrinos e neuroendócrinos, principalmente por hormônios hipotalâmicos, gonadotrofinas hipofisárias e os esteróides secretados pelas células foliculares dos ovários.

2.1.1. Dinâmica Folicular Ovariana

O processo contínuo de crescimento e regressão de folículos antrais que leva ao desenvolvimento do folículo pré-ovulatório no ovário é conhecido como dinâmica folicular ovariana. O crescimento folicular envolve o desenvolvimento sincrônico de um grupo de folículos, denominado onda folicular (GINTHER et al, 1996). Normalmente, podem ocorrer de uma a quatro ondas foliculares durante o ciclo estral (LUCY et al, 1992).

Cada onda de crescimento folicular é dividida em quatro fases: recrutamento, seleção, dominância e atresia ou ovulação (REIS, 2004). O GnRH (Hormônio Liberador de Gonadotrofina) é secretado pelo hipotálamo através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário, alcançando a hipófise e estimulando a liberação das gonadotrofinas: o FSH (Hormônio Folículo Estimulante) e o LH (Hormônio Luteinizante). Via circulação sanguínea, as gonadotrofinas alcançam os ovários, e estimulam o desenvolvimento (FSH) e a maturação dos folículos (LH) (ANTONIOLLI, 2002).

Segundo Fortune e colaboradores (2004), o recrutamento de cada onda é iniciado por meio de um pequeno aumento de FSH circulante. A síntese de receptores para FSH nas células da granulosa e para LH nas células da teca é necessária para os folículos entrarem na fase dependente de hormônio. A necessidade de FSH nos folículos dependentes é a característica que distingue os folículos responsivos a gonadotrofinas dos folículos ovulatórios (MORAES et. al, 2001). A emergência da primeira onda folicular é observada em torno de 1,5 dias após a ovulação; quando um conjunto de folículos antrais dependentes

de FSH começa a se desenvolver, observa-se então um aumento na concentração plasmática de FSH que antecede 1 a 2 dias a emergência de cada onda folicular (RENESTO, 2004).

As concentrações tônicas de LH e FSH são controladas por meio de um mecanismo de retro alimentação realizada pelos hormônios esteroidais (GONSALVES, 2001). A concentração de FSH atinge seu pico máximo quando o maior folículo denominado dominante (FD) atinge o tamanho de 4 a 5 mm (*Bos taurus indicus*) (NASSER, 2006). Em torno de 3 a 4 dias, após a emergência da onda, o FSH reduz para concentrações basais, devido a produção de estrógeno (E2) e inibina, sobretudo pelas células da granulosa do FD, que continua seu crescimento, enquanto o restante dos folículos, os chamados subordinados iniciam o processo de atresia.

A onda pré-ovulatória de LH se inicia em média 24 horas antes da ovulação na fêmea bovina e resulta na liberação do oócito. O efeito do pico de LH sobre as células da granulosa é estimular o processo de luteinização que transforma as células produtoras de E2 em produtoras de progesterona (P4), induzindo o aumento na produção de P4 e declínio na concentração de E2. (GONSALVES, 2001).

A dinâmica folicular em animais de origem zebuína tem-se mostrado diferente das fêmeas de raças européias, de modo que o diâmetro dos FD e a área do CL são menores nas fêmeas zebuínas (BORGES et al, 2004). Em zebuínos, há estudos que indicam maior incidência de três ondas, sendo relatado a presença de até quatro ondas de crescimento folicular por ciclo estral (BARUSELLI et al, 2007) onde a emergência da 3ª e a 4ª onda folicular estão associadas a uma fase luteínica mais prolongada (RASI, 2005).

2.1.2. Atividade do Corpo Lúteo

O corpo lúteo (CL) é uma glândula endócrina transitória formada a partir da proliferação e diferenciação das células foliculares após a ovulação. Esta glândula é requerida para que uma gestação tenha sucesso, fato identificado pela primeira vez em 1903 por Frankel (*apud* NISWENDER & NETT, 1994), que demonstraram que a gestação em coelhos era interrompida após remoção do CL.

O corpo Lúteo funcional é arredondado com um diâmetro de 20 a 25 mm e pesando em média 5g. Metade da massa do corpo lúteo pode sobressair da superfície do ovário, sendo mais notório em vacas *Bos taurus taurus* do que em vacas *Bos taurus indicus*. A cor amarela do corpo lúteo é devida aos carotenos (GONZÁLEZ, 2002).

O corpo lúteo é uma glândula endócrina transitória, cujo principal hormônio secretado, a progesterona, é necessário para o estabelecimento e manutenção da gestação. A produção ineficiente de progesterona é a maior causa de infertilidade e perda embrionária, assim a progesterona é necessária tanto para estimular a atividade endometrial, como a sobrevivência embrionária (NISWENDER, 1994; JUENGEL 1999). As concentrações de progesterona plasmática são virtualmente indetectáveis logo depois da ovulação (nas vacas 0,4 ng/mL), mas aumentam gradualmente a partir do 3º dia do ciclo até alcançar concentrações elevadas em torno do sétimo ou nono dia, permanecendo até o 14º ou 17º dia do ciclo estral (nas vacas- 6ng/mL) (GONZÁLEZ, 2002). Veronesi e colaboradores (2002) observaram alta correlação entre o tamanho do CL (não detectável, diâmetro menor que 20 mm e maior que 20 mm) e a concentração de P4 (< 1 ng/mL, de 1 a 4 ng/ mL e >4ng/ mL), indicando que a mensuração ultrassonográfica é o meio mais confiável para avaliação do diâmetro da massa luteal.

Segundo Reynold e Redmer (1999), o crescimento e o desenvolvimento do corpo lúteo são extremamente rápidos, associada à alta taxa de mitose celular, o corpo lúteo recebe mais suplemento sanguíneos por unidade de tecido que qualquer órgão, e também exibe uma taxa metabólica relativamente alta. O mais importante para o crescimento e desenvolvimento do corpo lúteo é o crescimento vascular, que é regulado primeiramente pelos fatores de crescimento angiogênicos, fator de crescimento do fibroblasto e fator de crescimento endotelial. O corpo lúteo é um tecido complexo composto de células do parênquima (células esteroideogênicas pequenas e grandes) e não parenquimais (por exemplo, fibroblasto, vascular, e endoteliais). Estudos recentes encontraram a expressão, localização e regulação de junções gaps nos corpo lúteo indicando a importância do papel da comunicação intercelular por meio das junções gap na coordenação das funções desses vários tipos celulares durante o crescimento e desenvolvimento luteal. Esse estudo

esclarece não só o conhecimento da função luteal, mas do crescimento e desenvolvimento dos tecidos em geral (REYNOLD; REDMER, 1999). Adicionalmente, o sistema de IGF, fatores angiogênicos e células imunes como a MCP-1, apresentam papel chave dentro do CL. Isso é indicativo que vários hormônios endócrinos são indispensáveis para a função luteal e o controle do mecanismo local é essencial para o desenvolvimento, manutenção e regressão do corpo lúteo (WEBB et al, 2002).

As células da teca interna e da granulosa sofrem mudanças morfo-funcionais no processo chamado luteinização, como consequência do aumento de LH no período pré-ovulatório. Se não houver a gestação, o corpo lúteo regride e um novo ciclo estral recomeça (GONZÁLEZ, 2002).

O principal agente luteotrófico e luteolítico nas fêmeas bovinas são hormônios LH e o PGF2 α , respectivamente (JUENGEL, 1999). No entanto, é cada vez mais evidente o número de fatores locais modulando a resposta do CL para essa resposta endócrina. O CL está associado com um aumento acelerado do número de vasos sanguíneos. As células endoteliais são os maiores componentes do CL maduro, com aproximadamente metade de todos os tipos celulares (REYNOLDS; REDMER, 1999). A regressão do CL está associada ao influxo de células imunológicas, o processo é regulado pela produção de uma variedade de quimiocinas e essas células produzem uma variedade de citocinas que afetam profundamente a função das células luteais. (PENNY, 2000). O conhecimento total da regulação do crescimento e regressão luteal é necessário para se entender como esses vários aspectos da função luteal são controlados e como eles interagem com os outros fatores para regular a extensão da remodelação do tecido que ocorre durante a meia vida do CL (IVELL, 1999; REYNOLDS; REDMER, 1999; SMITH et al, 1999)

A regressão do corpo lúteo ocorre 48 horas depois da liberação de PGF2 α do útero. A queda da progesterona junto com presença do estrógeno de origem folicular são fatores que estimulam a síntese e liberação da PGF2 α (GONZÁLEZ, 2002).

A regressão do CL nos ruminantes é induzida pela PGF2 α , que é um fator luteolítico, e que chega aos ovários pelo mecanismo de contra-corrente, passando da veia útero-ovariana para a artéria ovariana, evitando que o hormônio seja inativado (GONSALVES, 2001).

A luteólise pode ser bloqueada naturalmente pela ação de uma proteína produzida pelo concepto chamada trofoblastina ou interferon Tau, próximo à implantação do embrião (GONSALVES, 2001). Caso o concepto esteja presente no útero entre os dias 14° e 17° do ciclo, e ocorra secreção adequada de interferon Tau, não ocorrerá a liberação de PGF2 α e a P4 continuará sendo secretada pelas células luteínicas para a manutenção da prenhez (REIS, 2004).

O corpo lúteo também secreta ocitocina que esta envolvida no processo de luteólise na maioria dos mamíferos. A ocitocina de origem luteal, que é secretada sem neurofisina, tem receptores no endométrio e sua ação estimula a biossíntese de PGF2 α . A síntese dos receptores de ocitocina no endométrio é estimulada por 17 β - estradiol (KOTWICA et al, 1998).

2.1.3. Formação de corpo lúteo acessório

Atualmente, existem vários protocolos de sincronização eficientes, que além de sincronizar melhor o estro da receptora com o estro da doadora, ainda ajudam na formação de um corpo lúteo acessório, que pode fazer com que aumente a concentração de progesterona circulante e provavelmente melhorem a taxa de concepção. Mas antes de se iniciar um protocolo de sincronização deve-se avaliar muito bem o custo benefício do mesmo (VIEL JUNIOR, 2007).

Baruselli (2004 e 2005) demonstrou correlações positivas entre número de corpos lúteos, da concentração plasmática de P4 e da taxa de concepção após a transferência de embriões em receptoras sincronizadas pelo método de Inseminação em Tempo Fixo (IATF). Esses estudos indicaram que o tratamento com eCG no momento esperado da emergência da nova onda de crescimento folicular foi eficaz para induzir superovulação ou aumentar o diâmetro do folículo dominante. Esses efeitos determinam, além de maior número de corpos lúteos (ou corpo lúteo único maior), maior concentração plasmática de P4 e maiores taxas de aproveitamento, concepção e prenhez comparados aos tratamentos tradicionais com prostaglandina seguido de detecção do estro. Além disso, possibilitam a inovulação em tempo fixo, sem a

necessidade de detecção do estro, e com programação prévia do dia mais adequado para a inovulação dos embriões.

Em síntese, a PGF2 α causa diminuição do fluxo sanguíneo no ovário, acarretando queda de produção de progesterona. Provavelmente, o processo de luteólise pode ser primeiramente iniciado pela interação da PGF2 α com receptores específicos localizados na membrana plasmática das grandes células (via proteína quinase com o segundo mensageiro que diminuirá a esteroidogênese). Adicionalmente, as ações combinadas da PGF2 α , a liberação de ocitocina local, bem como a Endotelina-1 (ET-1), podem levar à vasoconstrição, isquemia, hipóxia, quimiotaxia de células imunológicas e, a seguir, a redução das concentrações de progesterona, mas também a apoptose das células não luteais, primeiramente em células endoteliais, depois no parênquima e por último nos fibroblastos (CEMBRANELLI, 2005).

2.1.4. Esteroidogênese

O oócito tem um papel ativo na coordenação da proliferação e diferenciação das células da granulosa ao seu redor (BURATINI et al, 2005). Comunicação intercelular é proporcionada por processos citoplasmáticos trans-zonais (TZP), sendo sugerido que concentrações reduzidas de BMP-15 em ovelhas heterozigotas potencializam o desenvolvimento folicular devido a um aumento na sensibilidade ao FSH. De fato, demonstrou-se que a BMP-15 suprime a expressão de receptores para FSH (FSHR) e de genes responsivos ao FSH, incluindo a StAR (proteína reguladora aguda da esteroidogênese), P450_{sc} (P450 clivadora de cadeia lateral), 3HSD (3 –hidroxiesteróide desidrogenase), LHR (receptores de LH) e inibina (OTSUKA et al, 2001 e SHIMASAKI et al, 2003).

O fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) também parece contribuir para a regulação do crescimento folicular pré-antral por meio de mecanismos endócrinos. A importância dos IGFs para os estágios iniciais do desenvolvimento folicular foi claramente demonstrada por experimentos em que o nocaute do gene resultou em comprometimento severo da foliculogênese pré-antral e antral inicial em camundongos (ELVIN et al, 2000).

Diferentemente do estágio pré-antral, o desenvolvimento folicular antral é criticamente dependente do suporte das gonadotrofinas. Em várias espécies domésticas, os folículos antrais são recrutados e crescem simultaneamente em uma onda folicular sob o controle das gonadotrofinas. (FORTUNE et al, 2001; GINTHER et al, 2003). Entretanto, se tornou evidente que fatores de crescimento produzidos localmente constituem moléculas estimuladoras e/ou reguladoras chave para os folículos antrais, atuando por meio de mecanismos parácrinos e endócrinos (GINTHER et al, 2003, WEBB et al, 2003, FORTUNE et al, 2004). Uma elevação nas concentrações plasmáticas de FSH estimula o recrutamento folicular e a emergência da onda folicular (ADAMS et al, 1992 e FORTUNE et al, 1994).

Em espécies monovulatórias, um folículo é selecionado do grupo de recrutados e adquire capacidade ovulatória, enquanto os folículos subordinados entram em atresia. O folículo selecionado é conhecido como folículo dominante e desempenha um papel ativo na supressão do crescimento dos subordinados pela secreção de estradiol e inibina (FORTUNE, 1994 e GINTHER et al, 1996). Em bovinos, os folículos podem atingir o diâmetro de 8 mm independente do suporte do LH, mas o crescimento além de 9 mm requer LH endógeno. Portanto, os folículos são considerados dependentes de FSH até a ocorrência da dominância, quando então, eles se tornam dependentes de LH (FORTUNE et al, 2001).

Receptores de FSH (FSHR) podem ser detectados em folículos primários bovinos, entretanto, considera-se que o FSH desempenha um papel permissivo ao invés de regulador neste estágio de desenvolvimento (BURATINI, 2005).

Os receptores de LH (LHR) das células da granulosa parecem estar relacionados à dominância folicular. A comparação dos padrões de expressão gênica observados por hibridização *in situ* em folículos antrais bovinos recrutados e selecionados indicou que a seleção está associada ao início da expressão do gene LHR em células da granulosa (BAO; GARVERICK, 1998). Isto é apoiado pelo aumento da concentração de RNAm do LHR detectado por RT-PCR (Reação em cadeia polimerase em tempo real) em células da granulosa de futuros folículos dominantes comparados com seus subordinados,

que ocorre no momento ou imediatamente antes do ponto de divergência (BEG et al, 2002).

Os IGFs são sinérgicos ao FSH na promoção de crescimento folicular e produção de estradiol (FORTUNE et al, 2004). Apesar da expressão gênica do IGF-I e II terem sido localizadas em células da granulosa e da teca, respectivamente, o IGF-II tem sido apontado como o principal IGF intraovariano, enquanto que o IGF-I atua de uma maneira endócrina (ARMSTRONG et al, 1998; YUAN et al, 1998; WEBB et al, 2003). O IGF-I e II ativam os receptores de IGF tipo I e II, ambos presentes em células da granulosa e da teca (SPICER et al, 2004). A concentração de IGF total não foi diferente no fluido folicular de folículos dominantes em relação a folículos subordinados, mas a concentração de IGF-I livre foi maior no fluido folicular do maior folículo comparado ao segundo maior da mesma onda, antes da observação de diferenças na concentração de estradiol ou diâmetro (BEG et al, 2002).

Alguns autores relataram que o número de folículos em uma emergência de onda folicular possui uma correlação positiva com o IGF-1 circulante, e o tratamento com o hormônio do crescimento (estimuladores de IGF-1) aumentam a quantidade de folículos durante a emergência folicular em bovinos. Adicionalmente, algumas evidências indicam que os animais *Bos taurus indicus* possuem maior circulação de IGF-1, demonstrando que a maior concentração de IGF-1 confere maior responsividade aos folículos maiores de 2 mm durante a emergência da onda folicular (ALVARES et al, 2000).

Vários autores afirmaram que concentrações fisiológicas de LH aumentam a secreção de progesterona das Células Luteínicas Pequenas (SLC), mas o LH não aumenta a secreção nas Células Luteínicas Grandes (LLC), embora se saiba que os dois tipos celulares apresentam receptores para este hormônio (CHEGINI et al, 1991). Em células de tecidos luteais bovinos, a adesão do LH ao seu receptor das SLCs ativa a adenilato-ciclase, conduzindo ao aumento das concentrações de AMPc (HANSEL et al, 1996) que finalmente ativa a PKA (proteína quinase A). Esta proteína, por sua vez, aumenta a quantidade de StAR fosforilada, proporcionando aumento do transporte de colesterol para o interior da membrana mitocondrial para futura síntese de progesterona. Entretanto, a ativação da PKA nas SLCs aumenta a liberação do

colesterol, mas não influencia nas concentrações de RNAm ou nas atividades da P450_{sc} ou 3β – HSD. Portanto, os efeitos esteroideogênicos agudos do LH não parecem modular as três principais enzimas envolvidas na síntese de progesterona, mas sugere-se que o LH aumenta a produção de P₄ (progesterona) pela facilitação do transporte do colesterol por meio da célula para o interior da membrana mitocondrial (WILTBANK et al, 1993). Este processo parece ser o passo chave na estimulação hormonal aguda da síntese de progesterona (MURPHY, 2000) pelas SLC.

A proteína Endotelina (ET-1) atua como um potente vasoconstritor, inibindo a atividade esteroideogênica, reduz o fluxo sanguíneo durante a luteólise inicial pela constrição arteriolar, leva à hipóxia, e, por conseguinte à apoptose das células (MILVAE et al,1996; MILVAE, 2000; PATE; KEYES, 2001).

A PGF₂α atua pela ligação a receptores específicos localizados nas LLCs (ANDERSON et al, 2001) onde se unem à proteína G estimulatória induzindo a ativação da PLC que, por sua vez, cataliza a hidrólise do PIP (Fosfatidil Inositol Bifosfato) em IP₃ e do diacilglicerol (DAG). O aumento das concentrações citosólicas de IP₃ resultam na liberação de cálcio livre do retículo endoplasmático liso para o compartimento citoplasmático. Este aumento de cálcio e do DAG (localizado na membrana plasmática) estimula a atividade catalítica da enzima Ca⁺⁺ – dependente proteína quinase C (PKC, também localizada na membrana plasmática). Acredita-se que a PKC modula muitas ações anti-esteroideogênicas da PGF₂α nas LLCs (NISWENDER, 2000). Recentes estudos têm demonstrado que as células endoteliais e seus produtos, como a endotelina-1 (ET-1) são requeridos para a manifestação dos efeitos luteolíticos da PGF₂α (MILVAE, 2000; PATE; KEYES, 2001).

2.2. Sincronização de estro e ovulação em receptoras Bovinas

Em termos práticos, é importante diferenciar sincronização de indução de estros. A sincronização consiste em encurtar ou prolongar o ciclo estral por meio da utilização de hormônios ou associações hormonais que induzam a luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo. Ao contrário, a indução de estros consiste em induzir o estro em fêmeas que estejam em anestro, também pelo

uso de hormônios ou práticas de manejo. Assim, são processos distintos e aplicáveis a diferentes categorias de animais (MORAES et al, 2001).

Para que ocorra uma boa implantação do embrião no útero da receptora, é necessário que esta esteja numa fase do ciclo estral que a doadora estava quando o embrião foi coletado. Quanto mais sincronizadas, melhores serão as taxas de concepção. Há uma margem aceitável de diferença entre o ciclo da doadora com o da receptora, esta margem é de 24 horas, porém, o melhor seria menor de 12 horas (VIEL JUNIOR, 2007).

Em bovinos, protocolos hormonais que controlam o desenvolvimento folicular e a função lútea permitem inseminação artificial (IA) em momento pré-determinado e sincronização de receptoras para inovulação de embriões (TE), potencializando a eficiência reprodutiva (BÓ et al, 2004; BURATINI et al, 2005).

2.2.1. Uso de PGF2 α na sincronização de estro

O procedimento mais comumente utilizado para sincronização de estro, por apresentar menor custo, é a aplicação de uma dose de agente luteolítico durante a fase luteal da receptora, por meio da lise precoce do CL, e fazendo com que ele ocorra sincronizado com o estro da doadora. Com a utilização desse protocolo, o estro é iniciado em média 36 a 72 horas após a aplicação do agente luteolítico. Porém, esse tratamento fica limitado às fêmeas que apresentarem corpo lúteo, isto é, do 6º ao 17º dia do ciclo estral (VIEL JUNIOR, 2007).

Broadbent (1991) verificou que o protocolo com PGF2 α geralmente usado para a sincronização de receptora consiste na administração de duas doses de PGF2 α em intervalos de 11 a 14 dias. Se todas as receptoras estiverem ciclando, em torno de 80% delas apresentarão sinais de estro até cinco dias após o tratamento. Entretanto, devido à baixa acurácia na detecção do estro, apenas 50% das receptoras tratadas são detectadas em cio, apresentam CL e são inovuladas após o estro (BÓ, 2002).

Os programas de TE comerciais apresentam, em geral, baixas taxas de aproveitamento (Total de receptoras aptas à inovulação/Total de receptoras tratadas x 100). Normalmente, em um lote de receptoras tratadas com prostaglandina associada à detecção de estro, somente 40 a 50% dos animais são aproveitados para a inovulação. Considerando-se uma taxa de concepção

de 50% do total de animais aproveitados, obtém-se apenas 20 a 25% de gestações ao final do tratamento (BARUSELLI, 2005).

2.2.1.1. Aplicação de PGF2 α no momento da retirada do dispositivo intravaginal

Mantovani e colaboradores (2004) compararam protocolo de 8 dias com protocolos com implante de progesterona por mais tempo. O protocolo de 8 dias foi o grupo 1, nos demais grupos, o implante permaneceu por 14 dias: no grupo 2 aplicou PGF2 α no dia 0 e 5, no grupo 3 aplicou PGF2 α somente no dia 5 e o grupo 4 no dia 0 e 14. O tratamento com CIDR[®] por 14 dias na ausência de um CL induz a formação de um folículo persistente resultando em um CL maior, com produção de maior quantidade de P4 que o CL desenvolvido pelo tratamento convencional de 8 dias. No entanto, a indução do folículo persistente reduz a taxa de concepção dos embriões transferidos.

Sá Filho e colaboradores (2005) utilizando implante de progesterona (CIDR[®]) novo e usado por 9 dias, compararam o efeito da aplicação do PGF2 α no momento da retirada ou 2 dias antes (no D7). No experimento foi utilizado BE um dia após a retirada do implante (D10). Os autores constataram que a antecipação da aplicação de PGF2 α tende a aumentar a taxa de prenhez.

Melo e colaboradores (2008) concluíram que a antecipação na administração de PGF2 α , dois dias antes da retirada do implante (D7) em relação à aplicação no momento da retirada (D9) não influenciou na taxa de concepção das vacas da raça Nelore para IATF. Fato este, intrigante já que considera que o aumento da secreção pulsátil de LH durante o período entre a luteólise induzida pela PGF2 α à remoção do progestágeno permita um crescimento mais uniforme do folículo ovulatório em animais tratados do que fêmeas que apresentam corpo lúteo na fase do diestro.

Recentemente, Binelli e colaboradores (2009) sincronizando ovulação de vacas da raça Nelore utilizando um dispositivo intravaginal de progesterona por 9 dias, associado a aplicação de PGF2 α no dia ou dois dias antes da retirada do implante, verificaram que a ovulação foi induzida em todas vacas por uma injeção de cipionato de estradiol no dia da remoção do dispositivo intravaginal de P4. A taxa de prenhez foi maior para vacas que recebiam PGF2 α mais cedo no protocolo de sincronização em comparação ao controle.

2.2.2. Eficiência do protocolo com PGF₂α x Implante de P4

Borsato (2005a) utilizando receptoras mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) comparou a taxa de prenhez de fêmeas sincronizadas por meio da aplicação de PGF₂α e por meio do uso associado de progesterona exógena, benzoato de estradiol e PGF₂ α, não observou diferença significativa em função do protocolo utilizado e tão pouco sobre a classificação do corpo lúteo (cavitário x compacto). Corroborando, Leal e colaboradores (2005) verificaram que os diâmetros do CL e da cavidade cística não interferiram na taxa de prenhez. Além disso, não observaram diferença nas concentrações de progesterona e estradiol entre as receptoras gestantes ou não gestantes.

Tríbulo e colaboradores (2000) comparando protocolo de PGF₂α versus implante de progesterona (CIDR[®]) por sete dias e BE na colocação e um dia após a retirada do dispositivo intravaginal (D8) também não verificaram diferença com relação a taxa de prenhez, sendo corroborado por dois estudos subseqüentes. Primeiro comparando a permanência do CIDR[®] por sete ou oito dias e DIB por sete dias, no qual, não foi observado diferença entre as receptoras inovuladas. Posteriormente comparou com o uso de 500 µg de cloprostenol e inovulação no sétimo dia após o estro, onde não se constatou correlação entre o volume luteal e a concentração de progesterona. (BÓ et al, 2001).

Vários estudos vêm sendo desenvolvidos, com o objetivo de melhorar o aproveitamento de receptoras para programas de TE sem o uso da detecção de cio. Tríbulo e demais colaboradores (2000) sugerem a aplicação de CIDR[®], combinado com 2mg de BE e 50 mg de P4, no dia 0 e uma aplicação de PGF₂α no dia sete, ou seja, no momento da retirada do CIDR, e mais uma dose de 1mg de BE no D8, sendo que para todas vacas foram consideradas que o D9 era o dia do estro.

Pfeifer e colaboradores (2009) verificaram que o efeito do PGF₂α na ovulação inclui o aumento na resposta da hipófise ao GnRH, aumentando a liberação de LH em vacas pós-parto e novilhas pré-pubescentes. Assim, o PGF₂α pode aumentar o efeito da progesterona exógena no hipotálamo após a retirada da progesterona, aumentando a responsividade das células basais da hipófise ao GnRH e induzindo a ovulação em ovelhas e vacas. Os autores,

baseando-se em experimentos anteriores constataram que o tratamento com CIDR[®], resolve os problemas de ciclos curtos após a primeira ovulação de novilhas sincronizadas com P4 e P4 + PGF2 α . Adicionalmente, os CLs (sete dias após a ovulação) foram maiores e produzem mais progesterona em receptoras que receberam progesterona quando comparados ao grupo controle, resultando numa duração normal do ciclo após a primeira ovulação.

O estudo de Carvalho e colaboradores (2008) corroboram com outros trabalhos realizados onde verificaram que folículos ovulatórios de maior tamanho em vacas de corte ciclando que receberam PGF2 α no momento da colocação do implante de progesterona, devido ao aumento na pulsatilidade de LH, como observado por Cupp e colaboradores (1993) em vacas com baixas concentrações de progesterona (1-2 ng/mL) desenvolvem folículos com maior diâmetro mais rapidamente que vaca com altas concentrações de progesterona (5-6 ng/ mL).

Outros estudos (MANTOVANI et al, 2004) verificaram que novilhas *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus* tratadas com PGF2 α no quinto dia após a inserção do CIDR possuem menores concentrações de progesterona, maiores taxas de crescimento folicular e ovulação, comprovando que uma maior taxa no crescimento folicular sob maior frequência no pulso de LH, como resultado da baixa concentração de progesterona, devido à diferença genética ou manipulação hormonal. Assim, a taxa de ovulação nas novilhas *Bos taurus indicus* tratadas com PGF2 α foi menor que os outros dois grupos (mestiços e *Bos taurus taurus*), outros fatores podem estar correlacionados com aumento no desenvolvimento folicular e subsequente taxa de ovulação nas raças zebuínas.

Estudos em novilhas da raça Nelore demonstraram que o tratamento com PGF2 α no momento da inserção do CIDR[®] não aumentou a taxa de prenhez quando empregado em protocolos de IATF. No entanto, esse estudo verificou uma alta porcentagem (30%) de animais sem CL no dia da inserção do CIDR[®]. Assim, embora este estudo tenha mostrado um aumento na taxa de ovulação em fêmeas tratadas com PGF2 α , novos estudos são necessários para determinar se a taxa de prenhez pode ser aumentada (MARQUES et al, 2005).

Rezende e colaboradores (2005) comparando a aplicação de PGF2 α no início de protocolo de sincronização e diferentes doses de eCG em novilhas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* para inovulação com embrião de PIV, não verificaram diferença entre os valores dos grupos com ou sem PGF2 α na taxa de aproveitamento, concepção, prenhez e para as dosagens de 300 UI de eCG comparada a de 400 UI. Esses resultados não corroboram com os estudos de Ayres e colaboradores (2009) que observou efeito positivo na aplicação do PGF2 α na colocação do dispositivo intravaginal.

Carvalho e colaboradores (2008) verificaram que a diminuição da concentração de progesterona circulante com uso da PGF2 α no primeiro dia de tratamento com progesterona, parece aumentar o desempenho dos protocolos de progesterona para IATF em novilhas. Geralmente, tratamento com PGF2 α no primeiro dia da colocação do dispositivo intravaginal de P4, reduz a concentração circulante de progesterona durante o tratamento e aumenta tanto o diâmetro máximo do folículo dominante, quanto à taxa de ovulação.

2.2.3. Uso de Benzoato de Estradiol (BE) associado ao Dispositivo Intravaginal de Progesterona (P4)

A ação potencializadora do estrógeno junto a progesterona, aliado ao surgimento também da prostaglandina e, posteriormente, de seus análogos como potentes agentes luteolíticos, condicionou a formação de métodos de sincronização de estros que combinam um curto período de exposição à progestagenos (< 14 dias) com drogas luteolíticas (BEAL,1996). Esses tratamentos procuraram sincronizar o crescimento folicular, de maneira que todos os animais apresentassem um folículo em crescimento e com capacidade de ovular no momento da administração da prostaglandina ou da remoção da fonte de progesterona (BÓ, 2000).

No caso de fêmeas em anestro é possível induzir artificialmente a atividade sexual cíclica, tendo-se a precaução quanto a sua utilização, pois normalmente os primeiros cios e ovulações, tanto no pós-parto quanto no período peripuberal, apresentam taxas de concepções baixas, provavelmente pela baixa qualidade do ovócito e ou baixa taxa de progesterona, necessária

para manter o ambiente uterino apropriado para uma possível gestação (PIMENTEL 2002).

Lemon e colaboradores (1975) analisaram a ação do uso de estrógenos, sozinhos ou em associação com progestagenos, na formação e regressão do corpo lúteo da fêmea cíclica. Para isto, ele comparou o desempenho do benzoato de estradiol junto ao do valerato de estradiol. O efeito luteolítico ocorreu em quase todas as fêmeas que receberam a aplicação de benzoato de estradiol nos dias 9, 12, e 15 do ciclo estral. A regressão luteal aconteceu, em media, três dias antes do que o observado fisiologicamente. Resultados similares foram obtidos nos animais que receberam valerato de estradiol no dia 9, e em menor extensão nos dias 6, 12 e 15 do ciclo estral. Estes estudos sugerem que o benzoato de estradiol é um agente luteolítico mais eficiente por um período maior do ciclo do que o valerato de estradiol. A consequência dos efeitos da aplicação de estrógenos é que a duração de vida do corpo lúteo é diminuída quando comparada a de um ciclo fisiológico (LEMON, 1975).

Programas de IATF em novilhas *Bos taurus indicus* têm obtidos resultados insatisfatórios. Altas concentrações de progesterona circulante diminuem a frequência do pulso de LH e suprimem o crescimento dos folículos nas vacas. Animais tratados com associação de estrógeno no início do tratamento com progesterona intravaginal, possuem menores concentrações de progesterona circulante durante o protocolo de sincronização que somente a base de progesterona, aumentando o crescimento folicular durante o período de sincronização, com maior aproveitamento nas taxas de ovulação e concepção (CARVALHO et al, 2008).

Apesar do cipionato de estradiol ter sido descrito como menos eficiente na sincronização da emergência folicular por ter uma meia vida e um clearance sanguíneo mais longo comparado com outros ésteres de estradiol (MARTINEZ, 2004), essa diferença não foi observado por Melo e colaboradores (2008) ao comparar o cipionato de estradiol (1mg) com o benzoato de estradiol (2 mg) no momento da colocação do implante, onde a taxa de concepção foi semelhante em vacas da raça Nelore para IATF. Este fato se deve a similaridade desses ésteres de estradiol em inibirem a pulsatilidade de FSH e induzirem atresia folicular, concordando com os estudos de Meneghetti e colaboradores (2006).

A maior proporção de folículos dominantes não ovulados nos *Bos taurus indicus*, provavelmente se deve a maior porcentagem de folículos imaturos na ovulação (induzidos pelo estrógeno) ao final do tratamento hormonal. Este fato sugere o baixo crescimento folicular nas novilhas *Bos taurus indicus* é devido à correlação entre a concentração de progesterona durante o tratamento hormonal e essa raça. Isso mostra que animais *Bos taurus indicus* podem manter concentrações de progesterona tão altas quanto *Bos taurus taurus* e animais cruzados (CARVALHO et al, 2008). Os autores afirmaram que altas concentrações médias de progesterona circulante levam a diminuição da frequência de pulsos de LH e, conseqüentemente, diminuição da presença de receptores de LH nos folículos de novilhas *Bos taurus indicus*, e que os tamanhos dos folículos não diferem entre os genótipos de novilhas até o oitavo dia, isso se deve ao aumento da eficiência no protocolo em novilhas *Bos taurus indicus*.

Carvalho e colaboradores (2008) verificaram que o tratamento com CIDR associado com BE são efetivos para IATF em novilhas de origem taurina e cruzadas. Os seus resultados indicam que a maior concentração circulante de progesterona observada em novilhas pode causar uma menor taxa de crescimento folicular durante o tratamento com CIDR, diminuindo a resposta ovulatória.

2.2.4. Uso de Benzoato de estradiol (BE) ou Cipionato de estradiol (CE) no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P4

Colazo e colaboradores (2003) observaram que a utilização de baixas doses de ECP[®] (0,5mg de Cipionato de estradiol) no momento da retirada do CIDR ou 24 horas após sua retirada sincronizou a ovulação e promoveu taxas de concepção similares à utilização de BE, 24 horas após a retirada de dispositivo de progesterona. Martins e colaboradores (2005) demonstraram que o momento da ovulação nos animais que receberam CE no momento da retirada do implante de P4 ou BE 24 horas após a retirada do dispositivo foram iguais. Penteadó e demais coladoradores (2005) testaram 0,5mg ou 1mg de Cipionato de estradiol na retirada do implante ou 1mg benzoato de estradiol 24 horas após a retirada do implante. Todas receberam 2mg de BE na colocação e uma dose (500µg) de PGF2α no dia 8. O uso de 1mg de CE proporcionou

melhores índices de concepção que os demais na IATF, além de facilitar o manejo.

2.2.5. Uso do Dispositivo Intravaginal associado ao uso de eCG

Quanto ao Hormônio eCG se sabe que ele é uma glicoproteína produzida pelos cálices endometriais e é sintetizada entre os dias 35 e 140 da gestação da égua. A relação FSH/LH deste hormônio varia durante os estágios da prenhez. O eCG permite que se consiga uma resposta superovulatória com apenas uma dose entre os dias 8 e 12 do ciclo estral. O eCG também induz uma resposta imunológica, com produção de anticorpos anti-eCG, o que determina para tratamentos superovulatórios subseqüentes, um aumento na dose para que se obtenha o mesmo efeito (PFEIFER et al, 2005).

Reis (2008) utilizou novilhas cíclicas da raça *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*, divididas em quatro grupos, sendo comum para todos grupos, o protocolo com BE e implante de P4, e no momento da retirada do dispositivo intravaginal, a aplicação de uma dose de 500 µg/mL de Cloprostenol e 0,5 mg de cipionato de estradiol. Porém, nos grupos tratamentos, no momento da retirada do implante (D8), aplicou-se 10µg de FSH no grupo 2, no grupo 3 aplicou-se 20µg de FSH e no grupo 4 aplicou-se 400 UI de eCG. Todas as receptoras foram inovuladas com embriões de PIV e a prenhez confirmada com ultrassom 23 dias após a TE. O autor verificou taxas de gestação similares entre o grupo de maior dosagem de FSH e o grupo eCG.

Em alguns estudos foi empregado o eCG (400 UI) na ocasião da retirada do tratamento com progesterona para estimular o crescimento folicular e aumentar o tamanho folicular (SÁ FILHO et al, 2004) e a capacidade esteroidogênica do corpo lúteo em vacas de corte (BARUSELLI et al, 2004a).

Estes autores verificaram que animais tratados com eCG tiveram maiores concentrações sanguíneas de P4 no diestro subsequente à IATF. Estes resultados estão de acordo com outros estudos realizados (BARUSELLI et al, 2003; PENTEADO et al, 2005) que relataram aumentos na taxa de concepção em vacas e novilhas de corte. Além disso, outros estudos utilizando receptoras de embrião, também relataram o efeito luteotrófico da eCG resultando no aumento da taxa de concepção após utilização em associação ao protocolo de sincronização de receptora de corte (BARUSELLI et al, 2003).

O tratamento com eCG na dose de 400 UI é altamente recomendado quando uma grande proporção de animais se encontram em anestro (BARUSELLI et al, 2004a). Existem muitos relatos de aumentos na fertilidade após a incorporação da eCG em protocolos para IATF, principalmente em vacas de corte (BARUSELLI et al, 2004). A melhora na taxa de concepção em animais que recebem a eCG na retirada do dispositivo intravaginal de P4, provavelmente, está relacionada ao aumento da taxa de ovulação dos animais em anestro e aos maiores concentrações de progesterona circulante no diestro (BARUSELLI et al, 2004a), minimizando falhas no reconhecimento materno-fetal da gestação (MANN; HARESIGN, 2001).

Bó e colaboradores (2004) realizaram vários experimentos comparando a aplicação de PGF2 α no dia 4 (dia da emergência da nova onda de crescimento folicular) em relação ao dia 8 (dia da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona), onde o primeiro aumentou o número de receptoras selecionadas para TE e a concentração de P4 nesse momento. Os autores em outro experimento aplicando eCG no dia 5 ou no dia 8, verificaram que a aplicação no dia 5 aumentou a taxa de prenhez, e não houve diferença entre diferentes dosagens de eCG (400 UI, 500 UI, 600 UI).

Entretanto, Ferreira e colaboradores (2006) estudaram três diferentes tipos de protocolos de sincronização em novilhas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* inovuladas com embriões de PIV. Em todos os grupos no dia 0 receberam implante auricular (norgestomet) mais BE. No grupo 1, as receptoras receberam eCG mais PGF2 α no dia 5 e BE um dia após a retirada (no D9); No grupo 2, as receptoras receberam eCG e PGF2 α no momento da retirada (D8) e BE um dia após (D9) e no grupo 3, as receptoras receberam eCG e CE no dia (8). O grupo 3, além de eliminar a mão de obra de mais passagens pelo curral apresentou melhores resultados na taxa de prenhez. Os autores comentam que essa mudança pra 8 dias só produz efeito no uso de Norgestomet, e com esse implante, o PGF2 α na colocação não apresentou diferença.

O eCG quando administrado em vacas em anestro cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação, mesmo em vacas que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas. Seu uso tem apresentado efeito positivo em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade (anestro), em

animais recém-paridos (período pós-parto inferior a dois meses), em animais com condição corporal comprometida $\leq 2,5$ na escala de 1 a 5; (BARUSELLI et al, 2004) e em animais que apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante e ovulação devido à altas concentrações de progesterona ao final do tratamento de sincronização (BARUSELLI et al, 2004) e aumenta a taxa de prenhez (MARQUES et al, 2005) . Adicionalmente, devido sua ação de LH e FSH e longa meia vida, a eCG pode ser utilizada em dose única em protocolos para superovulação em bovinos. Receptoras que recebem eCG durante o tratamento de sincronização apresentam aumento da taxa de ovulação e de aproveitamento, além de possuírem maiores níveis de progesterona circulante no diestro, minimizando falhas no reconhecimento da gestação e aumentando a eficiência da transferência de embriões (BARUSELLI et al, 2008).

Rodrigues e colaboradores (2004) verificaram que apenas os animais em anestro responderam positivamente ao tratamento com eCG. Nos animais ciclando não foi verificado aumento da taxa de concepção após o tratamento com eCG. Adicionalmente, fêmeas ciclando apresentam aumento nas concentrações circulantes de progesterona durante o tratamento, o que pode comprometer a pulsatilidade de LH e o crescimento final do folículo dominante (CARVALHO et al, 2008).

Os resultados obtidos nos estudos anteriores demonstram que o uso de eCG tem efeito positivo somente em animais em anestro. Pela ação prolongada (± 3 dias) de FSH e LH após o tratamento com eCG, o comprometimento na liberação de LH seria minimizado e o folículo dominante teria condições de crescer e de ovular.

O uso do eCG em protocolos de inovulação de embriões em tempo fixo tem aumentado a taxa de aproveitamento de receptoras e induzindo a formação de um corpo lúteo que produz mais progesterona no dia da inovulação dos embriões (BÓ et al, 2002; BARUSELLI et al, 2008).

De acordo com Vasconcelos e colaboradores (2001), quanto maior o volume do corpo lúteo, maior será a concentração de progesterona, e, conseqüentemente, maior taxa de concepção será obtida em vacas inseminadas em tempo fixo. Corroborando, Reis (2004) observou que receptoras com menores concentrações de progesterona no dia da inovulação

apresentaram menores taxas de concepção. No entanto, o efeito positivo da progesterona se verifica somente até determinadas concentrações. O aumento das concentrações plasmáticas de progesterona no diestro foi correlacionado com o crescimento embrionário, pelo maior aporte de nutrientes no lúmen uterino (BINELLI et al, 2001; GEISERT et al,1992), e com sua capacidade de secretar interferon- τ (MANN et al, 1999; MANN et al, 2001). A secreção de interferon- τ está correlacionada à diminuição da secreção de PGF2 α pelo endométrio uterino e bloqueio da luteólise (MANN et al, 1995, 1999), sendo associado ao aumento das taxas de concepção em bovinos (MACMILLAN et al, 1993; BARUSELLI et al, 2000). No entanto, alguns pesquisadores não observaram esse efeito (SPELL, et al, 2001; NOGUEIRA et al, 2004).

2.2.6. Número de Uso do Dispositivo Intravaginal de P4

Colazo e colaboradores (2004) não verificaram nenhuma diferença na taxa de concepção quando utilizou em novilha de corte um CIDR novo (48,3%) e CIDR usado (46,2%). Já em um segundo experimento, utilizando vacas e novilhas de corte obtiveram maiores taxa de concepção em animais tratados com dispositivos reutilizados por duas vezes (CIDR reutilizado uma vez = 48,4% vs CIDR reutilizado duas vezes = 62,4%). Em um terceiro experimento, os autores compararam o uso de CIDR novo, um CIDR reutilizado por uma vez, um CIDR reutilizado por duas vezes, e dois CIDRs reutilizados por duas vezes, e não verificaram diferença entre os grupos em termos de taxa de concepção após a IATF. Quando utilizaram CIDR reutilizado e CIDR novo, porém, valores menores taxas de prenhez foi registrada quando utilizaram CIDR reutilizados por 2 vezes.

Cerri e colaboradores (2005) utilizando vacas de leite de alta produção compararam a concentração de progesterona circulante em animais tratados com dispositivos intravaginais novos ou usados e observaram um efeito do tipo de dispositivo, sendo que os animais tratados com dispositivos reutilizados apresentaram menores concentrações circulantes de P4 a partir do segundo dia após a inserção dos dispositivos intravaginais, de modo que, as diferentes concentrações de P4 circulantes podem ter afetado a dinâmica folicular, provavelmente, segundo Carvalho e colaboradores (2008) devido a modificação do padrão de liberação de LH durante o período de permanência

do dispositivo de P4. Neste sentido, muitos autores descreveram o aumento da pulsatilidade do LH em animais com menores concentrações circulantes de P4 (KINDER et al, 1996; KIM et al, 2003).

O protocolo, que tem sido usado para controlar o desenvolvimento folicular é a combinação de estrógenos com progestágenos, que consiste em induzir a atresia de folículos antrais presentes, fazendo com que ocorra uma emergência folicular 4,3 dias após o tratamento (BÓ et al. 2006). O DIB apresentou mais embriões viáveis que o CIDR, provavelmente pelo fato de possuir menos P4, causando menos supressão na liberação pulsátil de LH levando a um número maior de ovócitos viáveis (NOGUEIRA et al., 2007).

Peres et al. (2005) comparando protocolo de sincronização de receptoras *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* com dispositivos intravaginais de diferentes concentrações de progesterona (0,5 e 1 g) não observaram diferença na taxa de prenhez.

Martins e colaboradores (2005) trabalhando com fêmeas novilhas e vacas da raça Nelore utilizaram protocolo com implante de P4 e BE no momento da colocação do implante intravaginal, e aplicação de PGF2 α no momento da retirada do dispositivo no oitavo dia e BE no dia seguinte (D9). O que diferiu entre os grupos analisados foi que o implante DIB de terceiro uso + P4 atrasou a emergência da onda, sendo essa mais sincronizada que nos outros grupos. O DIB de 3 $^{\circ}$ uso apresentou o mesmo resultado na sincronização de ovulação de vacas e novilhas.

Maio e colaboradores (2009) usaram novilhas ovariectomizada e verificaram a concentração de progesterona a cada 24 horas após a colocação de dispositivos de 1, 2 e 3 usos*. O padrão de liberação de progesterona em todos os usos se manteve em torno de 2 ng/mL até 196 horas de uso, indicando que o número de uso não influenciou a taxa de aproveitamento de fêmeas sincronizadas.

2.3. Seleção de Receptoras para TE de PIV

2.3.1 A seleção das receptoras

Para seleção de receptoras, se devem selecionar animais sadios, submetidos a exames clínicos e avaliação da capacidade reprodutiva. A

receptora ideal deve ser um animal jovem, saudável, com fertilidade comprovada, habilidade materna e um histórico de partos fáceis. Vacas acima de sete a oito anos de idade não devem ser empregadas porque as suas habilidades em manter a gestação são menores. Animais indóceis também são indesejáveis tanto pela dificuldade no manejo, quanto para manter a gestação (VIEL JUNIOR, 2007).

Alguns outros fatores devem ser levados em consideração, em relação à prenhez da receptora. Fatores como a sincronia da receptora com a doadora, a reutilização de receptoras, o tamanho e a localização do corpo lúteo (se está no ovário esquerdo ou no direito), a quantidade de corpos lúteos, as condições de manejo e de nutrição, etc. (VIEL JUNIOR, 2007).

Um dos pontos que mais interferem no resultado final de um programa de PIV é a qualidade da receptora no momento da transferência dos embriões. Para que a receptora esteja em condição ideal, alguns pontos devem ser seguidos: 1) Um eficiente controle sanitário deve ser estruturado procurando evitar a entrada e estabelecimento de diversas doenças infecto-contagiosas, tais como, brucelose, tuberculose, leptospirose, IBR, BVD e clostridiose. 2) Adequada estratégia de mineralização e alimentação, principalmente nas épocas de seca (QUEIROZ et al, 2005).

De acordo com Viel Junior (2007) pensar que somente a doadora é o foco principal de um trabalho com transferência de embriões pode ser um engano. A doadora e a receptora devem ser sempre trabalhadas com a mesma importância, pois se não forem tomados os devidos cuidados com as receptoras, a taxa de gestação deve cair, aumentando assim o custo unitário de cada produto.

2.3.2 Sincronização das receptoras

Para que ocorra uma boa implantação do embrião no útero da receptora, é necessário que esta esteja numa fase do ciclo estral que a doadora estava quando o embrião foi coletado. Quanto mais sincronizada estiver a condição uterina, melhores serão as taxas de concepção. Há uma margem aceitável de diferença entre o ciclo da doadora com o da receptora, esta margem é de 24 horas, porém, o melhor seria menor de 12 horas. (VIEL JUNIOR, 2007).

Existem vários métodos de sincronização para que o ciclo da receptora coincida com o ciclo da doadora. O procedimento mais comumente utilizado, por ter custos mais baixos, é a aplicação de uma dose de luteolítico durante a fase luteal da receptora, antecipando assim o próximo estro e fazendo com que ele ocorra junto com o estro da doadora. Em média, o estro ocorre de 36 a 72 horas após a aplicação do luteolítico. Porém, esse tratamento fica limitado às fêmeas que no momento da sincronização se encontram entre o 6º e o 17º dia do ciclo, pois é só durante essa fase do ciclo estral que obtem-se a ação luteolítica (VIEL JUNIOR, 2007).

Atualmente, existem vários protocolos de sincronização eficientes, que além de sincronizar melhor o estro da receptora com o estro da doadora, ainda ajudam na formação de um corpo lúteo acessório, que pode fazer com que aumente a concentração de progesterona circulante e provavelmente melhorem a taxa de concepção. Mas antes de se iniciar um protocolo de sincronização deve-se avaliar muito bem o custo benefício do mesmo (VIEL JUNIOR, 2007).

O incremento das taxas de aproveitamento e de concepção das receptoras é fundamental para maximizar a taxa de prenhez, e elevar o retorno zootécnico e econômico da TE, determinando, além de maior número de bezerras/ano, redução dos custos com receptoras não gestantes. (BARUSELLI, 2005)

Baruselli (2004, 2005) demonstrou correlações positivas entre número de corpos lúteos, da concentração plasmática de P4 e da taxa de concepção após a transferência de embriões em receptoras sincronizadas pelo método de Inseminação em Tempo Fixo (IATF). Esses estudos indicaram que o tratamento com eCG no momento esperado da emergência da nova onda de crescimento folicular foi eficaz para induzir superovulação ou aumentar o diâmetro do folículo dominante. Esses efeitos determinam, além de maior número de corpos lúteos (ou corpo lúteo único maior), maior concentração plasmática de P4 e maiores taxas de aproveitamento, concepção e prenhez comparados aos tratamentos tradicionais com prostaglandina seguido de detecção do estro. Além disso, possibilitam a inovulação em tempo fixo, sem a necessidade de detecção do estro, e com programação prévia do dia mais adequado para a transferência dos embriões.

3. Referências Bibliográficas

ADAMS GP, MATTERI RL, KASTELIC JP, KO JCH, GINTHER OJ. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.94, p.177-188, 1992.

ALVAREZ P.; SPICER L.J.; CHASE JR C.C.; PAYTON M.E.; HAMILTON T.D.; STEWART R.E. Ovarian and endocrine characteristics during and estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal Animal Science** 78:1291–302, 2000.

ANDERSON, L.E. et al. Prostaglandin F_{2α} receptor in the Corpus Luteum: recent information on the gene, messenger ribonucleic acid, and protein. **Biology of Reproduction**, v.64, p. 1041-1047, 2001.

ANTONIOLLI, C. B. **Desenvolvimento folicular, ondas foliculares e manipulação**. Seminário (Seminário apresentado na disciplina de Endocrinologia da Reprodução do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 15 p., 2002

ARMSTRONG DG, BAXTER G, GUTIERREZ CG, HOGG CO, GLAZYRIN AL, CAMPBELL BK, BRAMLEY TA, WEBB R. Insuline-like growth factor binding protein-2 and -4 messenger ribonucleic acid expression in bovine ovarian follicles: effect of gonadotropins and development status. **Endocrinology**. v.139, p.2146- 2154, 1998.

AYRES H.; FERREIRA MR.; MARTINS C.M.; REIS P.O.; Efeito da administração de PGF no início do protocolo de sincronização de novilhas submetidas à TETF. Maio 2009 <http://www.beefpoint.com.br/?noticialID=53969&actA=7&areaID=60&secaoID=181> acessado dia 16 de junho de 2009.

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

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; COSTA NETO, W.P.; GRANDINETTI, R.R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.28, p. 218, 2000.

BARUSSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; REIS, E.L.; BÓ, G.A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with cidrb devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, p. 214, 2003.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. ; MARQUES M. O.; RODRIGUES, C.A.; NASSER, L.F.; SILVA, R.C.P.; REIS, E.L.; SÁ FILHO, M.F. Efeito do tratamento com ECG conforme o escore de condição corporal na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p.228, 2004.

BARUSELLI P.S.; MARTINS C.M.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; MADUREIRA E.H.; BÓ G.A.. Novos avanços nos tratamentos de doadoras e de receptoras de embrião bovino. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): 151-156, 2005.

BARUSELLI, P. S; GIMENES, L. U; SALES, J. N. S. Revista Brasileira de Reprodução Animal. **Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.205-211, abr./jun. 2007. < www.cbra.org.br >. Acesso em: 26 de nov de 2008.

BEAL, W.E. Application of knowledge about corpus luteum function in controle of estrus and ovulation in cattle. **Theriogenology**, v.45, p.1399-1411, 1996.

BEG, M. A; BERGFELT, D.R.; KOT, K.; GUNTHER, O. J. Follicle selection in cattle: dynamics of follicular fluid factors during development of follicle dominance. **Biology Reproduction**, v. 66, p. 120-126, 2002.

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

BINELLI M.; MACHADO R.; BERGAMASCHI M.A.C.M.; BERTAN C.M. Manipulation of ovarian and uterine fuction to increase conception rates in Cattle. **Animal reproduction** v.6,n.1, p,125-134, Jan./marc. 2009.

BÓ, G.A. et al. Local versus systemic effects of exogenous estradiol-17 β on ovarian follicular dynamics in heifers with progestagens implants. **Animal Reproduction Science**, v. 59, p.141-157, 2000.

BÓ G.A.; TRÍBULO H.; CACCIA M.; TRÍBULO R.; Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal devices and transferred without estrus detection. **Theriogenology**: 55: 357, abstr.2001.

BÓ G.A.; BARUSELLI P.S; MORENO D.; CUTAIA L.; CACCIA M.; TRÍBULO R.; TRÍBULO H.; MAPLETOFT RJ. The controle of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** 57: 53-72, 2002.

BÓ, G.A.; MORENO D.; CUATAIA L.; BARUSELLI P.S; REIS, EL. Manipulação hormonal do ciclo estral de doadoras e receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32 (suplemento): p. 1-22, 2004.

BÓ,G; BARUSELLI,S; CHESTA, P; MARTINS,C. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. **Theriogenology**, v. 65 89-101, 2006.

BORGES, A. M.; TORRES, C. A. A.; RUAS, J. R. M.; ROCHA JUNIOR, V. R.; RUAS, J. R. M.; GIOSSO, M. M.; FONSECA, J. F.; CARVALHO, G. R.; MAFFILI, V. V. Follicular dynamic and ovulation time of non-lactating Gir and Nelore cows during two seasons of the year. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.80, n.5, p. 346-354, nov 2004.

BORSATO E.A.; LUDWIG JR H.E.; SILVA D.R.M.; BARREIROS T.R.R.; SENEDA M.M. Comparação da taxa de prenhez de receptoras com corpo Lúteo compacto ou cavitário após protocolos de transferência em tempo fixo ou com PGF₂ α **Acta Scientiae Veterinariae** 33(Suplemento 1): p.224, 2005a.

BORSATO E.A.; LUDWIG JR.; SILVA, D.R.M.; BARREIROS T.R.R.; SENEDA M, M. Comparação das perdas gestacionais de receptoras inovuladas com embriões *Bos indicus* produzidos In Vivo e In vitro **Acta Scientiae Veterinariae** 33(Suplemento 1): p. 185, 2005b.

BROADBENT PJ; STEWART M; DOLMAL DF. Recipient management and embryo transfer. **Theriogenology**; 35:125-140, 1991.

BURATINI JR J.; CASTILHO A.C.S.; TEXEIRA A.B.; COSTA L.B.; PINTO M.G.L.; GIOMETTI I.C.; GLAPINSKI V.F.; NOGUEIRA M.F.G.; BARROS C.M.; PRICE C.A. Avanços no entendimento da fisiologia do desenvolvimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae** 33(suplemento 1): p.55-68, 2005.

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

CEMBRANELLI, M.A.R.; Eficiência das duas doses de D- cloprostenol para a sincronização de estro em bovinos nas diferentes fases do ciclo estral Unifenas, Tese de Dissertação de Mestrado, Alfenas 2005. http://tede.unifenas.br/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=10

CERRI, R. L. A.; RUTIGLIANO, H. M.; BRUNO, R. G. S.; SANTOS, J. E. P. Progesterone (P4) concentrations and ovarian response after insertion of a new or 7-d used intravaginal P4 insert (IPI) in proestrus lactating cows. **Journal Dairy Science**, Supplement, 1 v. 88, p. 37, 2005.

CHEGINI, N. et. al. Cellular distribution and Cycle phase dependence of gonadotropin and eicosanoid binding sites in bovine corpora lutea. **Biology of Reproduction**, v.45, p. 506-513, 1991.

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.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVAGA, Q. A.; WIDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animals Reproduction Science**, v. 81, p. 25-34 2004.

CUPP A.; GARCIA. W.M.; ZAMUDIO A.; MARISCAL V.; WERMAN M. KOJIMA N. Concentration of progesterone (p4) in circulation has differential effect on biochemical characteristics of dominant follicles in cows. **Jornal Animal Science** 71: p. 211, 1993.

ELVIN JA, YAN C, MATZUK MM. Oocyte-expressed TGF-beta superfamily members in female fertility. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.159, issues 1-2, p.1-5, 2000.

FERREIRA R.M.; RODRIGUES C.A.; AYRES H.; MANCHILLA P.H.; FRANCESCHINI C.R.; ESPER C.R.; BARUSELLI P.S. Effect of synchronizing ovulation in cattle administered a norgestomet ear implante in association with eCG and estradiol treatments on pregnancy rate after fixed- time embryo transfer. **Animal Reproduction** v.3, n. 3. P 370-375, Jul/ Sept. 2006.

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

FORTUNE, J.E. et al. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. **Biology of Reproduction**, v.65, p. 648-654, 2001.

FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M.; YANG, M. Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. In: International Congress on Animal Reproduction, 15, 2004, Porto Seguro. Proceedings...Porto Seguro. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 109-126, 2004.

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

GINTHER OJ, WILTBANK MC, FRICKE PM, GIBBONS JR., KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology Reproduction** v.55, p.1187-1194, 1996.

GINTHER OJ, BEG MA, DONADEU FX, BERGFELT DR. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science** v.78, p.239-257, 2003.

GONSALVES, P.B. Transferência e Criopreservação de embriões Bovinos. In: REICHENBACH, H. D. et al. **Biotécnicas Aplicadas a Reprodução animal**. 1. ed. São Paulo: Varela, cap. 8, p.127-178, 2001.

GONZÁLEZ F.H.D. Introdução a endocrinologia reprodutiva Veterinária. Laboratório de Bioquímica Clínica Animal. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2002.

HANSEL, W.; BLAIR, R.M. Bovine corpus luteum: a historic overview and implications for future research, **Theriogenology**, v. 45, p. 1267-1294, 1996.

IVELL R, BATHGATE R, WALTHER N. Intraovarian regulation of luteolysis. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**;54:207-16, 1999.

JUENGE L JL, NISWENDER GD. Molecular regulation of luteal progesterone synthesis in domestic animals. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**;54:193–205, 1999.

KIM, S.; TANAKA, T.; KAMOMAE, H. Different effects of subnormal levels of progesterone on the pulsatile and surge mode secretion of luteinizing hormone in ovariectomized goats. **Biology Reproduction**, v. 69, p. 141-145, 2003.

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

KOTWICA, J.; SKARZYNSKI, D.; MISZKIEL G. Oxytocin modulates the pulsatile secretion of prostaglandin F₂ alfa in initiated luteolise in cattle. **Research in Veterinary Science**, 66: 1-5 1998.

LEAL L.S.; OBA, E.; FERNANDES C.A.C.; SÁ FILHO O.G. Avaliação do corpo lúteo, tônus uterino e concentração plasmática de progesterona e estradiol de novilhas receptoras no dia da transferência de embriões. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1) p. 223, 2005.

LEMON, M. The effect of oestrogens alone or in association with progestagens on the formation and regression of the corpus luteum of the cycle cow. **Annales Biology Animal Biochimic and Biophys**, v.15, n.2, p.243-253, 1975.

LUCY, M.C., SAVIO, J.D., BADINGA, L. et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal Animal Science**, v 70 p 3615-3626, 1992.

MACMILLAN KL, PETERSON AJ. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDRB) for estrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science**. V. 33, p. 1-25, 1993.

MAIO J.R.G.; SOUZA E.D.F.; CARREIRO S.S.; SALES J.N.S.; CREPALDI G.A.; SILVA K.C.F.; SANTOS G.M.G.; SÁ FILHO M.F.; CARVALHO M.M.; SENEDA M.M.; BARUSELLI P.S. Plasmatic progesterone concentration and pregnancy rate of bovine females synchronized to FIAI with Sincrogest® (intravaginal progesterone device). **Animal Reproduction** v.6, n.1, p. 306, jan./mar. 2009.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E; FRAY, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. **Animal Reproduction Science** 37: 121-131, 1995.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. The regulatory of interferon- γ production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal Reproduction and Fertility** 54: 317-328, 1999.

MANN, G. E.; HARESIGN, W. Effect of oestradiol treatment during GnRH-induced ovulation on subsequent PGF₂alpha release and luteal life span in anoestrous ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 67, p. 245-252, 2001.

MANTOVANI A.P.; REIS E.L.; BÓ G.A.; GACEK F. Prolonged use of a progesterone- releasing intravaginal device (CIDR®) on the induction of persistent follicles in bovine embryo recipients. **15th International Congress on Animal Reproduction**, Porto Seguro, [Abstract].2004.

MARQUES M.O.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; FIGUEIREDO T.B.; SORIA G.F.; BARUSELLI P.S. Efeito do tratamento com PGF2 α na inserção e/ou tratamento com ECG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção á Inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae** 1: p.287, [Abstract]. 2005.

MARTINEZ, M.F.; BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. *Biocnologia da Reprodução em Bovinos. I Simposio Internacional de Reprodução Animal Aplicada*, Londrina, 2004.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U. BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas Nelores tratadas com cipionato ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. Annual Meeting of Brazilian Technology Society. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p.285, 2005.

MELO, W.O.; SOUZA, J.A.T.; ELIAS A.K.S.; ROCHA, I.J.; MARTINEZ, J.J.M.; TORRES JÚNIOR, J.R.S. Efeito do éster de estradiol e da aplicação de prostaglandina na taxa de concepção de vacas nelore (*Bos indicus*) sincronizada para Inseminação Artificial em Tempo Fixo. **Anaispibic 2008**.cpatu.embrapa.br/.../10_Waldjano_de_Oliveira_Melo. PDF.

MENEGHETTI, M; LOSI, TC.; VILELA, E.R; MARTINS JR, A.P; VASCONCELOS, J.L.M. Cipionato ou benzoato de estradiol associado a inserção de dispositivo intravaginal de progesterona na resposta a protocolo de inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae** **34(suplemento 1)**: 2006

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

MILVAE, R.A. Inter-relationships between endothelin and prostaglandinF2 α in corpus luteum function. **Reviews of Reproduction**, v.5, p.1-5, 2000.

MORAES, J. C. F.; SOUZA, C. J. H.; GONSALVES, P. B. D. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GONSALVES, P. B. D.; FIGUEIREDO, J. R.; FREITAS, V. J. F. **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**, São Paulo: Livraria Varela, cap. 3, p. 25-55, 2001.

MURPHY, B.D. Models of Luteinization. **Biology of Reproduction**, v.63, p.2-11, 2000.

NASSER, L. F. T. **Resposta superovulatória na primeira onda de crescimento folicular em doadoras Nelore (*Bos taurus indicus*)**. tese

(Doutorado) - USP . FMVZ. Departamento de reprodução animal, São Paulo, 80f. 2006.

NISWENDER, G.D., NETT, T.R. The physiology of reproduction. : Corpus luteum and its control in infrapimate species. **Raven Press Ltd.**, v.1, p.781-815, 1994.

NISWENDER, G. D. et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, v.80, n.1, p.1-29, 2000.

NOGUEIRA, M.F.G.; MELO, D.S.; CARVALHO, L.M.; FUCK, E.J.; TRINCA, L.A.; BARROS, C.M. Do high progesterone concentrations in embryos recipients synchronized with PGF2 α and eCG **Theriogenology**, 61: 1283-1290, 2004.

NOGUEIRA, M; FRAGNITO, P; TRINCA, L; BARROS, C. The effect of type of vaginal insert and dose of pLH on embryo production, following fixed-time AI in a progestin-based superstimulatory protocol in Nelore cattle. **Theriogenology**, 67, 655-660, 2007.

OTSUKA F, YAMAMOTO S, ERICKSON GF, SHIMASAKI S Bone morphogenetic protein-15 inhibits follicle stimulating hormone (FSH) action by suppressing FSH receptor expression. **Journal of Biology and Chemistry**, v.276, p. 11387-11392, 2001.

PATE, J.L.; KEYES, P.L. Immune cells in the corpus luteum: friends or foes? **Biology of Reproduction**, v.122, p.665-676, 2001.

PENNY LA. Monocyte chemoattractant protein 1 in luteolysis. **Review Reproduction**;5:63–6. 2000.

PENTEADO, L. SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C. L.; GIMENES, L. U.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Conception rates in lactating Nelore cows treated with intravaginal progesterone device associated with estradiol benzoate or cypionate. Annual meeting of Brazilian technology society. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 260, 2005.

PERES L.C.; PINCINATO D. BALLA E.; TRIBULO R.; BÓ G.A. Taxas de prenhez em receptoras de embriões tratadas com dispositivos intravaginais com diferentes concentrações de progesterona. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.219, 2005.

PFEIFER, L. F. M.; CORRÊA, M. N .; PINESCHI, L. E. **Universidade Federal de Pelotas**: Alternativas hormonais para programas de transferência de embriões em bovinos, Faculdade de Veterinária, 2005.

PFEIFER L.M.F.; SIQUEIRA L.G.; MAPLETOFT.; KASTELIC J.P.; ADAM G.P.; COLAZO M.G.; SINGH J. effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepuberal heifers. **Theriogenology** 72 1054-1064, 2009.

PIMENTEL, C. A. Ginecologia Bovina. **Curso de Ginecologia Bovina** Tapes/RS, p. 35, 11-15 de março de 2002.

QUEIROZ L.M.V.; Peixer M.A.S.; MALARD P.F.; SANTANA G.M.; XAVIER M.C.; SOUZA R.R. RASI, F. P. A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos.** Dissertação (mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu. 27f. 2005.

RASI, F. P. A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos.** Dissertação (mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu. 27f. 2005.

REIS, E. L. Reprodução Animal: **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica eqüina no protocolo de sincronização da ovulação para T. E. T. F..** Dissertação (Mestrado) - FMVZ departamento de Reprodução animal, São Paulo, 101f. 2004.

REIS, P.O. ; MARTINS, C.M. ; SALES, J.N.S. ; CREPALDI, G.A. ; FERREIRA, R.M. ; TEIXEIRA, A.A. ; BARUSELLI, P.S. . Effect of FSH treatment at intravaginal progesterone device withdrawal on pregnancy rate of crossbred heifers (Bos taurus x Bos indicus) submitted to FTET. In: II International Symposium on Animal Biology of Reproduction, 2009, São Paulo. **Animal Reproduction.** Belo Horizonte : Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, v. 6. p. 304-304, 2008.

RENESTO, A. **Associação das biotécnicas: aspiração folicular guiada por ultrasonografia e superovulação na produção in vitro e in vivo de embriões bovinos.** Tese (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita" - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Jaboticabal - SP. 59 f.2004.

REYNOLDS LP, REDMER DA. Growth and development of the corpus luteum. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**;54:181–91, 1999.

REZENDE C.R.; NASSER L.F.; REZENDE, L.F.; NUNEZ M.M.; VIEIRA M.P.; AYRES H.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; MARUSELLI P.S. Efeito no momento da administração da PGF α e da dose de ECG na sincronização da ovulação para inovulação em tempo fixo em novilhas. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.225, 2005.

RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; REIS, E.L.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Aumento da taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com uso de eCG em diferentes períodos pós-parto. In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2004, Barra Bonita. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32. p. 220. 2004.

SÁ FILHO, M. F.; REIS, E. L.; VIEL JR., J.O.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Follicular dynamics in anestrous lactating Nelore treated with ear implant, eCG and GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 235, 2004. Apresentado no Annual Meeting of Brazilian Technology Society

SÁ FILHO, O.G.; VASCONCELOS, J.L.M.; SANTOS, R.M.; OBA, E.; PEREZ, G.C.; ARAÚJO, D.B. Efeito do momento da aplicação de PGF2 α no protocolo de transferência de embriões em tempo fixo nas taxas de sincronização e concepção em receptoras de embriões PIV. **Acta Scientiae Veterinariae** v. 33 (suplemento 1) p. 177, ap. oral, 2005.

SHIMASAKI S, MOORE RK, ERICKSON GF, OTSUKA F. The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function. **Reproduction**. v. 61, p. 323-337, 2003.

SMITH MF, MCINTUSH EW, RICKE WA, KOJIMA FN, SMITH GW. Regulation of ovarian extracellular matrix remodelling by metalloproteinases and their tissue inhibitors: effects on follicular development, ovulation and luteal function. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement**;54:367–81, 1999.

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

SPICER LJ. Proteolytic degradation of insulin-like growth factor binding proteins by ovarian follicles: a control mechanism for selection of dominant follicles. **Biology Reproduction**, v. 70, p. 1223-1230, 2004.

THIBIER, M. The zootechnical applications of biotechnology in animal reproduction: current methods and perspectives. *Reproduction, Nutrition, Development*, v.45,p235-242,2005.

TRÍBULO H.; BÓ G.A.; GATTI G.; TEGLI J.C.; CUTAIA L.; MORENO D.; BRITO M.; TRÍBULO R.; Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR- B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. **14 th International Congress on Animal Reproduction**, 2: 115,abstr. Stockholm, Sweden, 2000.

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

VERONESI M.C; GABAI G.; BATTOCCHIO M.; MOLLO A.; SOLDANO F.; BONO G.; CAIROLINI.; Ultrasonographic appearance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows. **Theriogenology** 58 61-68, 2002.

VIEL JUNIOR, J.O. Transferência de embriões bovinos. Curso de especialização *Latu Sensu* em produção e reprodução de bovinos. **Universidade Castelo Branco**, Três Lagoas 2007. <http://WWW.qualittas.com.br/documento/transferencia%20de%20embrioes%20debovinos%20-joao%20odair%20viel%20junior.PDF>. acessado dia 20 de dezembro de 2009.

WEBB R., WOAD K.J., ARMSTRONG D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology**, 23 277–285, 2002.

WEBB R, NICHOLAS B, GONG JG, CAMPBELL BK, GUTIERREZ CG, GARVERICK, HA, ARMSTRONG DG. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle. **Reproduction**, Suppl. v.61, p.71- 90, 2003.

WILTBANK, M.C.; BELFIORE, C.J.; NISWENDER, G.D. Steroidogenic enzyme activity after acute activation of protein kinase (PK) A and PKC in ovine small and large luteal cells. **Molecular Cellular Endocrinology**, v. 97, p. 1-7,1993.

YUAN W, BAO B, GARVERICK HA, YOUNGQUIST RS, LUCY MC. Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II binding protein-2 in dominant and subordinate follicles. **Domestic Animal. Endocrinology**. v. 15, p.55-63,1998.

Capitulo I: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões produzidos *in vitro* (PIV) submetidas a diferentes protocolos de sincronização de estro.

Resumo:

Com o objetivo de estudar o efeito de diferentes protocolos de sincronização de estro (Uso de cloprostenol no momento da colocação do implante intravaginal e sua permanência por período de oito e nove dias) sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*, inovuladas com embriões de PIV, utilizou 1933 receptoras (3.649 sincronizações) divididas em seis protocolos. No primeiro protocolo, as receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol (BE) e 500 µg de cloprostenol, e um dispositivo intravaginal (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por oito dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal cada receptora recebeu uma dose única de 0,5 mg de Cipionato de estradiol (CE), 500 µg de Cloprostenol e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). No segundo protocolo, as receptoras receberam o mesmo tratamento que o primeiro protocolo, porém sem a dose de 500 µg de Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No terceiro protocolo, as receptoras receberam no momento da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona uma dose única de 500 µg de Cloprostenol e 2,0 mg de BE, sendo que o dispositivo permaneceu por nove dias. Dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal (dia sete) as fêmeas receberam uma dose única de 500 µg de Cloprostenol, e no momento da retirada do implante, receberam uma dose única de 0,5 mg de CE e 400 UI de eCG. No quarto protocolo, as receptoras receberam o mesmo tratamento que o terceiro protocolo, porém sem Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No quinto protocolo, as receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, e um dispositivo intravaginal de progesterona por nove dias. Dois dias antes da retirada, no dia sete, receberam 500 µg de Cloprostenol e no momento da retirada do implante 0,5mg de CE e 300 UI de eCG. No sexto protocolo, as receptoras receberam 2,0 mg de BE, via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona que permaneceu por oito dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal, cada receptora recebeu 0,5 mg de CE, 500

µg de Cloprostenol e 300 UI de eCG. Os dados foram submetidos a análises estatísticas descritivas (distribuição de frequência) e os dados qualitativos foram arranjados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de qui-quadrado a 5 % de probabilidade de erro. Receptoras que receberam PGF2α 48 horas antes da retirada do implante apresentaram melhores índices de aproveitamento de receptoras (protocolo 3, 4, 5) ($p < 0,05$). Sendo melhor nas fêmeas submetidas ao protocolo 4 (84,9%) ($p < 0,05$). As receptoras que apresentaram estro em período superior a 91 dias antes da colocação do implante apresentaram piores taxas de aproveitamento que receptoras que apresentaram cio mais recente, inclusive para fêmeas cíclicas ($p < 0,05$), de modo que, a presença do CL influenciou na taxa de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$). O útero classificado como flácido apresentou melhores respostas de aproveitamento. O número de utilização do dispositivo não influenciou na taxa de aproveitamento de receptoras ($p > 0,05$). O status reprodutivo e o número de protocolo no histórico não interferiram na taxa de aproveitamento de receptoras ($p > 0,05$). No entanto, receptoras que não receberam PGF2α antes da colocação do dispositivo intravaginal apresentaram melhores resultados que as que receberam ($p < 0,05$). As categorias de fêmeas (vacas e novilhas) não influenciaram a respostas aos tratamentos de sincronização de estro, embora novilhas na fase pré-puberal são menos responsivas a aplicação de PGF2α no início do protocolo. Independente da categoria de fêmeas, a presença do corpo lúteo e tonicidade uterina flácida no momento da colocação do dispositivo intravaginal mostraram-se positivamente relacionado à resposta de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$). A reutilização de dispositivo intravaginal não influenciou sobre a taxa de aproveitamento em receptoras de embriões ($p > 0,05$). Fêmeas com históricos prévios de uso de protocolos de sincronização com uso de PGF2α mostraram-se menos responsáveis a novos protocolos de sincronização, embora não apresentaram o mesmo comportamento com relação aos protocolos com progestágenos associado a PGF2α. Nas condições estudadas, receptoras que receberam PGF2α 48 horas antes da retirada do implante apresentaram melhores índices de aproveitamento com maior número de animais aptos para a inovulação do embrião.

Palavras-chaves: Bovinos, Embriões, CIDR, Sincronização do estro

Recovery rate in bovine recipients of embryos produced in vitro (IVP) submitted to different estrus synchronization protocols

Abstract:

Aiming to study the effect of different estrus synchronization protocols on the pregnancy rate in *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* recipient cattles, transferred with in vitro produced embryos, this study used 1,933 recipients (3,649 synchronizations) divided into 6 groups. In group 1, recipients received 2.0 mg of estradiol benzoate (EB) and 500 mg of cloprostenol, in addition to an intravaginal device (1.9 g of progesterone) that remained for eight days. Upon withdrawal of the intravaginal device each recipient received a single dose of 0.5 mg of estradiol cypionate (EC), 500 mg of cloprostenol and 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG). In group 2, recipients received the same treatment as the first group, but without the 500 mg dose of cloprostenol at the placement of the progesterone intravaginal device. In group 3, recipients received at the time of intravaginal progesterone device placement a single dose of 500 mg cloprostenol and 2.0 mg of EB, and the device remained for nine days. Two days before the intravaginal device removal (day seven) females received a single dose of 500 mg cloprostenol, and at the time of device removal, received a single dose of 0.5 mg of EC and 400 IU of eCG. In group 4, the recipients received the same treatment as group 3, but without cloprostenol in the intravaginal progesterone device placement. In group 5, recipients received 2.0 mg of EB, and an intravaginal progesterone device that remained for eight days. Upon withdrawal of the intravaginal device, each recipient received 0.5 mg of EC, 500 mg of cloprostenol and 300 IU of eCG. In group 6, recipients received 2.0 mg of EB and an intravaginal progesterone device for nine days. Two days before the withdrawal, (day seven), received 500 mg of cloprostenol and at the time of device removal received 0.5 mg of EC and 300 IU of eCG. All recipients that had corpus luteum were transferred on average 10 days after implant removal, about eight days after estrus, and evaluated by ultrasonography 58 days after embryo transfer to pregnancy diagnosis. Data were subjected to descriptive statistics analysis (frequency distribution) and qualitative data were arranged in contingency tables and analyzed by chi-square at 5% of probability. Recipients that received PGF2a 48

hours prior to the removal of the implants had better recovery rates (protocols 3,4,5) ($p < 0.05$). Being better in animals under Protocol 4 (84.9%) ($p < 0.05$). The recipients that were in estrus longer than 91 days before placing the implant had worse recovery rates than recipients in estrus later, including cyclic females ($p < 0.05$), so that the presence of CL influenced recovery rate in recipients ($p < 0.05$). The uterus classified as flaccid showed better recovery responses. The number of uses of the device did not influence the recipients recovery pregnancy rates ($p > 0.05$). The reproductive status and protocol number in the history did not affect the recipients recovery rate ($p > 0.05$). However, recipients who did not receive PGF2 α before intravaginal device placement, had better results than those who received ($p < 0.05$). The female categories (cows and heifers) did not influence the responses to estrus synchronization treatments, although heifers in the pre-puberty are less responsive to PGF2 α application in the beginning of the protocol. Regardless of the female category, the presence of the corpus luteum and flaccid uterine tone at the time of intravaginal device placement proved to be positively related to the recovery rates response of recipients ($p > 0.05$). Reuse of intravaginal device did not influence the recovery rate in embryo recipients ($p > 0.05$). Females with histories of prior use of synchronization protocols with the use of PGF2a to become less responsive to new synchronization protocols, while not having the same behavior with respect to protocols with progesterone associated with PGF2a. The studied recipients that received PGF2a 48 hours before removal of the implant showed better recovery rates, and hence a larger number of animals suitable for embryo transfer.

Keywords: Cattle, CIDR[®], embryos, estrus synchronization

1. Introdução:

No sistema convencional protocolando apenas com PGF2 α e observação de estro, se todas receptoras estiverem ciclando previamente, a taxa de aproveitamento não chega aos 50% e conseqüentemente a taxa de prenhez se aproxima dos 25 % (BÓ et al 2004). Sabe-se que o custo de manutenção da receptora no sistema é um dos pontos mais onerosos da TE. Desta forma, o incremento das taxas de aproveitamento e de concepção das receptoras é fundamental para maximizar a taxa de prenhez e, com isso, elevar o retorno zootécnico e econômico da TE, determinando, além de maior número de bezerras/ano, redução dos custos com receptoras não gestantes. (BARUSELLI et al, 2000).

Atualmente, diferentes protocolos de sincronização de cio de receptoras são utilizados com objetivos distintos. Dependendo da disponibilidade de receptoras e da frequência de sessões de PIV, pode-se optar pelas seguintes metodologias: a) Aplicação de uma dose de prostaglandina que apresenta uma taxa de sincronização de cio de 40%, entretanto, possui um custo baixo; b) dispositivo intravaginal de progestágeno associado a estrógeno e prostaglandina, possui índice de sincronização de estro de 65%; c) dispositivo de progestágeno associado com estrógeno, prostaglandina e eCG, apresenta a maior taxa de sincronização de estro, com maior custo, sendo indicado em receptoras de programas sequenciados ou em fazenda com restrição de receptoras. (QUEIROZ et al., 2005).

Assim, se tem utilizado protocolos com implantes de progesterona e outras variações na aplicação de hormônios objetivando melhores resultados, principalmente em novilhas mestiças (CARVALHO et al., 2008) aumentando o número de receptoras aptas a inovulação. Portanto, os novos protocolos visam à obtenção de corpos lúteos maiores e que apresentem maior concentração de progesterona após a ovulação (BORSATO et al., 2005).

O objetivo desse estudo foi verificar a taxa de aproveitamento de receptoras sincronizadas com protocolos de oito e nove dias de exposição a progesterona exógena e diferentes momentos da aplicação de prostaglandina e doses diferentes de eCG.

2. Material e Métodos:

2.1. Local e seleção das Receptoras

Este experimento foi realizado no município de Pedro Leopoldo-MG, latitude -19° 37' 05", longitude 44° 02' 35", altitude de 698 metros, pluviosidade media de 1267 mm e temperatura media de 21°C, no período de julho de 2008 a Julho de 2009.

Total de 1933 receptoras mestiças *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* foram utilizadas no presente experimento, totalizando 3649 tratamentos de sincronização. As receptoras eram avaliadas previamente quanto à condição uterina, atividade ovariana, status reprodutivo e ultimo estro antes da colocação do dispositivo intravaginal (este ultima dividida em duas variáveis: IEPROT- intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal e CLAPROT- classe de intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal). As receptoras foram classificadas ainda quanto à categoria vaca ou novilha.

As fêmeas foram criadas em regime semi-intensivo, onde receberam cana-de-açúcar picada, concentrado de soja ou sorgo e caroço de algodão, complexo mineral reprodução associado a complexo vitamínico e balanceado segundo valores contidos na tabela de exigência do NRC (2001) e água *ad libitum*, durante todo período experimental.

Em relação ao Programa de Sanidade, somente compuseram o grupo experimental as fêmeas que apresentaram certificado negativo para as doenças IBR, BVD, Leptospirose, Tuberculose, Brucelose, Tricomose.

2.2. Tratamentos

O Protocolo de sincronização foi iniciado em fase aleatória do ciclo estral das fêmeas bovinas. Total de 3.649 tratamentos, divididos em 6 protocolos de sincronização. No **Protocolo 1** foram realizados 974 tratamentos em 818 animais, média de 1,2 protocolos por animal. As receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol (Estrogin[®],Famavet) e 500 µg de cloprostenol (sincrosin, Vallée) via intramuscular, e um dispositivo intravaginal (CIDR[®],Pfizer, 1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal cada receptora recebeu uma

dose única de 1,0 mg de Cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer), 500 µg de Cloprostenol e 400 UI de eCG (Novormon[®], Syntex S.A), via intramuscular. No **Protocolo 2** foram realizados 457 tratamentos em 414 animais, média de 1,1 protocolos por animal. As receptoras receberam o mesmo tratamento que o primeiro grupo, porém sem a dose de 500 µg de Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No **Protocolo 3** foram realizados 751 tratamentos em 670 animais, média de 1,1 protocolos por animal. As receptoras receberam no momento da colocação do dispositivo intravaginal (1,9 g de Progesterona) uma dose única de 500 µg de Cloprostenol e 2,0 mg de Benzoato de estradiol (BE), via intramuscular, sendo que o dispositivo permaneceu por 9 dias. Dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal (dia 7) as fêmeas receberam uma dose única de 500 µg de Cloprostenol, via intramuscular, e no momento da retirada do implante, receberam uma dose única de 1,0 mg de Cipionato de estradiol (CE) e 400 UI de eCG. No **Protocolo 4** foram realizadas 86 tratamentos em 86 animais. As fêmeas receberam o mesmo tratamento que o **Protocolo 3**, porém sem Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No **Protocolo 5** foram realizados 525 tratamentos em 435 animais, média de 1,2 protocolos por animal. As receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 9 dias. Dois dias antes da retirada, no dia 7, receberam 500 µg de Cloprostenol e no momento da retirada do implante 0,5mg de Cipionato de estradiol e 300 UI de eCG, por via intramuscular. No **Protocolo 6** foram realizados 856 tratamentos em 662 animais, média de 1,3 protocolos por animal. As receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal, cada receptora recebeu 1,0 mg de Cipionato de estradiol, 500 µg de Cloprostenol e 300 UI de eCG via intramuscular. Todas as receptoras foram avaliadas em média 10 dias após a retirada do dispositivo intravaginal de P4, ou seja, por volta de 8 dias após estro, quanto a presença do corpo lúteo e classificadas como aptas ou não a serem inovuladas (Fig. 1). O estro era observado por uma pessoa devidamente treinada para observação do mesmo no período da manhã e tarde por pelo menos 30 minutos.

As receptoras foram avaliadas quanto à resposta ao protocolo no histórico (seja ele apenas com prostaglandina ou com dispositivo intravaginal de P4) e o quanto esse influenciou na taxa de aproveitamento do dispositivo intravaginal de P4 analisado. Esse dispositivo intravaginal foi identificado quanto ao número de utilização do CIDR.

Na central Serandy, no período da seca, a dieta dos animais foi composta por cana-de-açúcar picada fresca, 20 kg/cabeça/dia, farelo de soja (800g/cabeça/dia), Megalac (100g/cabeça/dia) e sal mineral (100 g/cabeça/dia). No período das águas com farelo de soja (100g/cabeça/dia), milho moído (100g/cabeça/dia), Megalac (100g/cabeça/dia) e sal mineral (80g/cabeça/dia).

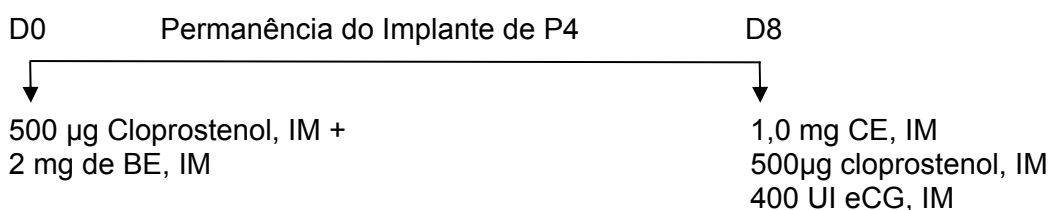
Já na central Rural Par no período da seca a dieta das receptoras foi composta por cana-de-açúcar picada *Ad libitum*, suplementada com farelo de soja (800g/animal/dia). Após o mês de setembro (período das águas), a dieta passou a ser feita fornecendo-se farelo de sorgo (600g/animal/dia), caroço de algodão (800g/animal/dia), núcleo vitamínico mineral (Bovigold®, 30g/animal/dia) e suplemento mineral *Ad libitum* Tortuga Reprodução.

2.3. Análises estatísticas

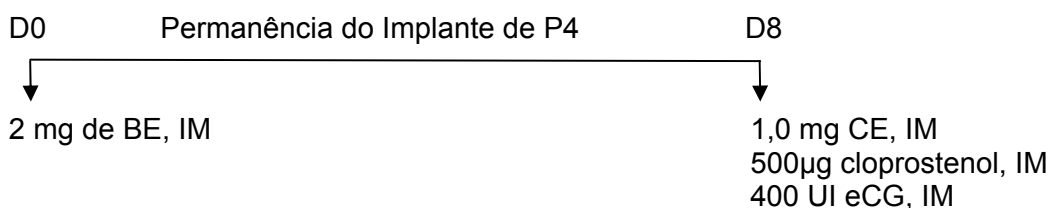
Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva (distribuição de frequência) empregando o programa SAEG (SAEG-UFV, 2007)

Os dados qualitativos foram arranjados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de qui-quadrado a 5 % de probabilidade de erro, para avaliar a taxa de aproveitamento nos diferentes protocolos e os efeitos do intervalo do último estro à colocação do dispositivo intravaginal de P4, condições uterinas e atividade ovariana na ocasião da colocação do dispositivo intravaginal de P4, número de utilização do CIDR e status reprodutivo.

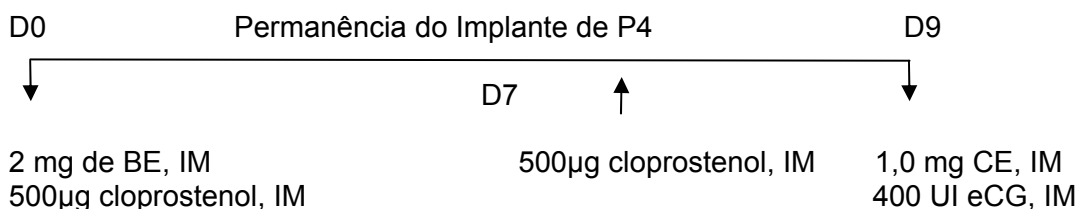
Protocolo 1



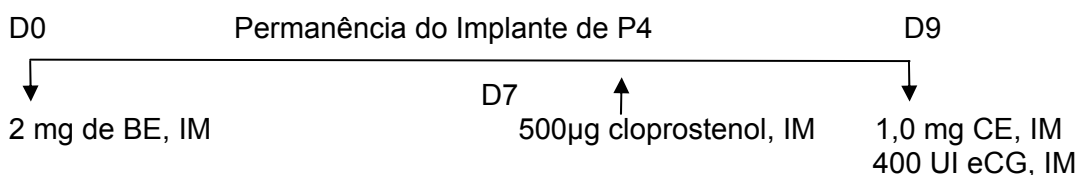
Protocolo 2



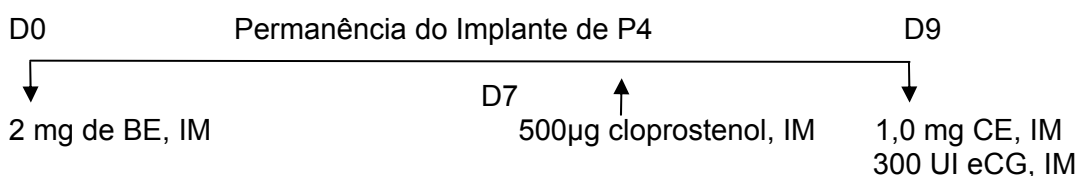
Protocolo 3



Protocolo 4



Protocolo 5



Protocolo 6

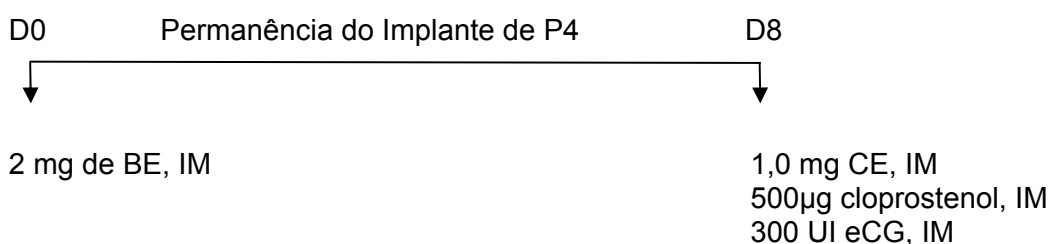


Figura 1: esquemas dos diferentes protocolos de sincronização do estro.

3. Resultados e discussão:

No presente estudo a taxa de acurácia de detecção do estro e de aproveitamento de receptoras (corpo lúteo presente) (75,5% e 72%, respectivamente) apresentaram-se melhores que os relatados por Broadbent (1991) e Bó (2002) utilizando apenas aplicação de prostaglandina em intervalos de 11 a 14 dias.

Os valores obtidos para a taxa de aproveitamento em receptoras de acordo com os tipos de protocolos de sincronização de estro estão sumariados na tabela 1.

Tabela 1: Taxa de aproveitamento de corpo lúteo em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com o tipo de protocolo de sincronização de estro

Protocolo	Com CL	Total
1	698/974 (71,7) ^a	974 (24,9)
2	306/457 (67,0) ^{ac}	457 (11,7)
3	567/751 (75,5) ^{ad}	751 (19,2)
4	73/86 (84,9) ^{bde}	86 (2,2)
5	644/856 (75,2) ^{adf}	856 (21,9)
6	345/525 (65,7) ^{bcf}	525 (13,4)
Geral	2633/3649 (72,2)	3649 (100)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P = 0,05$).
n/N (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais do protocolo 1 foram iguais aos valores dos protocolos 2, 3 e 5 ($p > 0,05$), e diferiram dos valores percentuais do protocolo 4 e 6 ($p < 0,05$). Os valores percentuais do protocolo 2 foram iguais aos valores dos protocolos 1 e 6 ($p > 0,05$), e diferiram dos valores percentuais do protocolo 3, 4 e 5 ($p < 0,05$). Os valores percentuais do protocolo 3 foram iguais aos valores dos protocolos 1, 4 e 5 ($p > 0,05$), e diferiram dos valores percentuais do protocolo 2 e 6 ($p < 0,05$). Os valores percentuais do protocolo 4 foram iguais aos valores do protocolo 3 ($p > 0,05$) e diferiram dos valores dos protocolos 1, 2,

5 e 6 ($p < 0,05$). Os valores percentuais do protocolo 5 foram iguais aos valores dos protocolos 1, 3 e 6 ($p > 0,05$), e diferiram dos valores percentuais do protocolo 2 e 4 ($p < 0,05$). Os valores percentuais do protocolo 6 foram iguais aos valores do protocolo 2 ($p > 0,05$), e diferiram dos valores percentuais dos protocolos 1, 3, 4 e 5 ($p < 0,05$).

O objetivo dos protocolos é mimetizar a fisiologia onde a regressão do corpo lúteo ocorre 48 horas depois da liberação de $\text{PGF}_2\alpha$ do útero. A ausência do CL leva a diminuição da progesterona, essa diminuição associada ao estrógeno de origem folicular são fatores que estimulam a síntese e liberação da $\text{PGF}_2\alpha$ (GONZÁLEZ, 2002). No protocolo, o $\text{PGF}_2\alpha$ é aplicado no momento da retirada do implante para levar a queda da progesterona e uma dose extra de estrógeno é aplicada.

A escolha do benzoato de estradiol na colocação do dispositivo de progesterona, no presente estudo, está em consonância com os estudos prévios de Lemon e colaboradores (1975) que analisaram a ação do uso de estrógenos, sozinhos ou em associação com progestágenos, na formação e regressão do corpo lúteo da fêmea cíclica. Para isto, eles compararam o desempenho do benzoato de estradiol junto ao do valerato de estradiol. O efeito luteolítico ocorreu em quase todas as fêmeas que receberam a aplicação de benzoato de estradiol nos dias 9, 12, e 15 do ciclo estral. A regressão luteal aconteceu, em média, três dias antes do que o observado fisiologicamente. Resultados similares foram obtidos nos animais que receberam valerato de estradiol no dia 9, e em menor extensão nos dias 6, 12 e 15 do ciclo estral. Estes estudos sugerem que o benzoato de estradiol é um agente luteolítico mais eficiente por um período maior do ciclo do que o valerato de estradiol. A consequência dos efeitos da aplicação de estrógenos é que a duração de vida do corpo lúteo é diminuída quando comparada a de um ciclo fisiológico (LEMON et al., 1975).

No presente estudo, os protocolos 2 e 6 apresentaram os menores taxas de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$), embora não tenha observado diferença entre os valores do protocolo 2 e 1 ($p > 0,05$). Os dois primeiros protocolos diferiram dos demais protocolos, e o primeiro mostrou valor intermediário entre os protocolos estudados. Entretanto, verifica-se que os três protocolos diferem dos demais por não ter a antecipação de dois dias na

aplicação da PGF₂α da retirada do dispositivo intravaginal e a permanência do dispositivo intravaginal por oito dias contra os nove dias dos demais protocolos. Provavelmente, a antecipação da aplicação da PGF₂α faz com que após a retirada do dispositivo intravaginal não haja concentrações de P4 elevadas, permitindo o crescimento folicular sem ação inibitória da P4. Adicionalmente, há ainda a ação estimulatória exercida pelo hormônio eCG exógeno aplicado no momento da retirada do dispositivo intravaginal. Corroborando com estudos anteriores, que evidenciaram os efeitos benéficos do tratamento com eCG sobre a taxa de prenhez, estando relacionado ao aumento do diâmetro do folículo ovulatório, da concentração de progesterona que pode estimular a capacidade do conceito de secretar Interferon- T e facilitar o reconhecimento materno da gestação (MANN et al., 1999) e aos estudos de Renesto (2004) que observou um aumento na concentração plasmática de FSH que antecede 1 a 2 dias a emergência de cada onda folicular, efeito esse mimetizado pelo eCG.

Alguns estudos usando eCG (400 UI) no momento da retirada do dispositivo intravaginal conseguiram estimular o crescimento folicular e aumentar o tamanho do folículo ovulatório (SÁ FILHO et al, 2004). Assim, a administração de eCG aumenta a capacidade esteroidogênica do CL (MARQUES et al., 2005; SOUZA et al., 2009). Isso sugere que vacas tratadas com eCG podem possuir maior concentração plasmática de progesterona durante o diestro após a sincronização do estro. O uso do eCG em protocolos de inovulação de embriões em tempo fixo tem aumentado a taxa de aproveitamento de receptoras e induzindo a formação de um corpo lúteo que produz mais progesterona no dia da inovulação dos embriões (BÓ et al., 2002; BARUSELLI, 2008) como observado no presente estudo (tabela 1).

O número satisfatório de fêmeas apresentando corpo lúteo indica melhor aproveitamento de receptoras à inovulação (tabela 1) corroborando com Borsato (2005) que utilizou 203 receptoras mestiças em dois grupos, um recebendo PGF₂α nas fêmeas com presença de CL e o outro recebendo dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) com aplicação de 500 mg cloprostenol (PGF₂α) no momento de sua colocação e retirada (após 8 dias), associado a 2mg BE no D9. Todas receptoras com presença de corpo lúteo foram inovuladas com embriões produzidos *in vitro*. Foram observadas

diferenças nos dois grupos quanto à taxa de aproveitamento de receptoras, embora não tenha ocorrido diferença nas taxas de prenhez. Entretanto, os autores ressaltam o aumento percentual de receptoras com corpos lúteos maiores quando protocoladas com progesterona para inovulação de embriões em tempo fixo, em comparação às protocoladas de forma convencional com PGF₂α.

Um protocolo semelhante ao protocolo 4 do presente estudo, que alcançou também boa taxa de aproveitamento de receptoras foi relatado por Siqueira et al (2006) que utilizou 30 novilhas mestiças que foram submetidas ao protocolo CIDR-Heatsych (dia 0- GNRH +CIDR; dia 7- PGF₂α e retirada do CIDR; no dia 8 IATF) nas fêmeas que não apresentaram cio até 30 horas após a retirada do dispositivo intravaginal foi aplicado benzoato de estradiol. Não houve diferença no percentual de animais apresentando corpos lúteos no momento da inovulação entre as fêmeas com ovulação espontânea ou induzida pelo BE. A área total do corpo lúteo e a área de tecido luteal, contudo, foram maiores nos animais com ovulação espontânea que naqueles tratados com BE.

As receptoras com melhores características nos critérios convencionais de seleção de receptoras são aquelas que apresentam maior tamanho de área luteal, manifestação de estro e ovulação espontânea após o protocolo. De fato, a manifestação de estro só ocorre quando folículos atingem um estágio de maturação associado a um maior diâmetro e, conseqüentemente, associados a um maior tamanho luteal. Contudo, apesar da indução da ovulação pelo BE resultar na formação de corpos lúteos menores, um número maior de animais pode ser utilizado como receptoras, minimizando o descarte de embriões ou os inconvenientes da criopreservação dos embriões excedentes.

Resultados diferentes aos obtidos no presente estudo, que visa a utilização de um protocolo com manejo reduzido das receptoras sem perder na qualidade da resposta, foram descritos por Mollo et al. (2006) cujo objetivo foi comparar dois protocolos de sincronização de cio/ovulação em receptoras de embrião. Um protocolo com mais manejo e outro com menos. Não houve diferença no diâmetro máximo do folículo ovulatório ou no volume luteal entre os grupos, embora os autores verificassem que o grupo com menos manejo (3 vezes) não se mostrou vantajoso em relação ao grupo com mais manejo (5

vezes) devido ao fato de ter promovido um menor grau de sincronia de ovulação, além de uma possível queda na taxa de prenhez.

No presente estudo analisou se o intervalo do último cio até momento da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona (IEPROT) influencia na taxa de aproveitamento de receptoras em resposta aos protocolos empregados (Tabela 2).

Tabela 2: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com intervalo da observação do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (IEPROT).

IEPROT (dias)	Com CL	Total
0 (0 dias)	845/1199 (70,5) ^a	1199 (32,9)
1 (< 16 dias)	919/1244(73,9) ^a	1244 (34,1)
2 (17-30 dias)	323/447 (72,3) ^a	4447 (12,2)
3 (31-45 dias)	298/407 (73,2) ^a	407 (11,1)
4 (46-65 dias)	138/189 (73,0) ^a	189 (5,2)
5 (66-90 dias)	88/115 (76,5) ^a	115 (3,1)
6 (> 90 dias)	22/48 (45,8) ^b	48 (1,3)
Geral	2633/3649 (72,2)	3649 (100)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; P =0,05).
^{*}n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual na linha.

Os animais que estão no grupo 6 (com mais de 90 dias de estro até a colocação do dispositivo intravaginal) onde se encontra parte dos animais em anestro, apresentaram uma taxa de aproveitamento pior que os animais dos demais grupos ($p < 0,05$), não sendo observado diferença entre as demais classes de intervalo de estro. Tais observações demonstram a importância da seleção de animais que estejam ciclando. Pois mesmo que as utilizações de hormônios dêem o suporte endócrino necessário para a ovulação da nova onda folicular, a taxa de aproveitamento de receptoras com CL estará comprometida.

O resultado observado nesse estudo está em conformidade com o estudo de Pimentel (2002) ao afirmar que no caso de fêmeas em anestro é possível induzir artificialmente a atividade sexual cíclica, tendo-se a precaução quanto a sua utilização, pois normalmente os primeiros cios e ovulações, tanto no pós-parto quanto no período peripuberal, apresentam taxas de concepções baixas, provavelmente pela baixa qualidade do ovócito e ou baixa taxa de

progesterona, necessária para manter o ambiente uterino apropriado para uma possível gestação (PIMENTEL 2002), explicando assim em parte a baixa taxa de aproveitamento desse grupo.

O eCG quando administrado em vacas em anestro cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação, mesmo em vacas que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas. Seu uso tem apresentado efeito positivo em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade (anestro), em animais recém paridos (período pós parto inferior a 2 meses), em animais com condição corporal comprometida $\leq 2,5$ na escala de 1 a 5; (BARUSELLI et al., 2004) e em animais que apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante e ovulação devido à altas concentrações de progesterona ao final do tratamento de sincronização (BARUSELLI et al., 2005) e aumenta a taxa de prenhez; (MARQUES et al., 2005) . Por isso a utilização do eCG e a resposta deste grupo onde se concentra as fêmeas em anestro.

Entretanto, ao se agrupar os intervalos do estro à colocação do dispositivo intravaginal em classes com maiores amplitudes (CLAPROT) essa diferença não foi observada ($p>0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões, de acordo com as classes de intervalo do estro anterior até o momento da colocação do implante (CLAPROT).

CLAPROT (dias)	Com CL	Total
0 (0 dias)	845/1199 (70,5)	1199 (32,9)
1 (< 16 dias)	919/1244 (73,9)	12244 (34,1)
2 (17-65 dias)	637/874 (72,9)	874 (23,9)
3 (> 65 dias)	232/332 (69,9)	332 (9,1)
Geral	2633/3649 (72,2)	3649 (100)

$p > 0,05$ pelo teste de qui-quadrado ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $p = 0,05$).
 n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual na linha.

Quando considerado a categoria de fêmeas (novilhas e vacas) também não se observou efeito do intervalo do ultimo estro à colocação do dispositivo sobre a taxa de aproveitamento de receptoras ($p>0,05$) (tabela 4).

Tabela 4: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV de acordo com as classes de intervalo do estro anterior até o momento da colocação do implante (CLAPROT) e nas categorias novilhas e vacas.

Claprot	Categorias de Fêmeas			
	Novilha		Vaca	
	Com CL	Geral	Com CL	Geral
0	794/1135 (70,0)	1135 (32,9)	51/64 (79,7)	64 (31,7)
1	870/1184 (73,5)	1184 (34,3)	49/60 (81,7)	60 (29,7)
2	586/803 (73,0)	803 (23,3)	51/71 (71,8)	71 (35,1)
3	228/325 (70,1)	325 (9,4)	4/7 (57,1)	7 (3,5)
Geral	2478/3447 (71,9) ^A	3447 (100)	155/202 (76,7) ^A	202 (100)

p > 0,05 pelo teste de qui-quadrado ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; p = 0,05). ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; P = 0,05).
n/N (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual na linha

Os resultados do presente estudo mostram que o uso de dispositivo de progesterona (CIDR- 1,9 g de progesterona) não interferiu negativamente no grupo de novilhas frente ao grupo de vacas, diferindo dos estudos de Carvalho e colaboradores (2008) onde verificaram que o tratamento com CIDR associado com BE são efetivos para IATF em novilhas de origem taurina e cruzadas. Os seus resultados indicam que a maior concentração circulante de progesterona observada em novilhas pode causar uma menor taxa de crescimento folicular durante o tratamento com CIDR, diminuindo a resposta ovulatória.

Na tabela 5 estão sumariados os valores percentuais da taxa de aproveitamento de receptoras de acordo com a classe de intervalo de estro à colocação do dispositivo intravaginal (CLAPROT) e os diferentes protocolos de sincronização.

Na classe de intervalo de estro igual a 0 (sem estro no histórico antes da colocação do dispositivo intravaginal) os valores do protocolo 1 foram iguais aos valores dos protocolos 2 e 6 (p > 0,05), diferindo dos valores percentuais dos protocolos 3, 4 e 5 (p < 0,05). Na classe 1 (estro no histórico em período anterior a 16 dias antes da colocação do dispositivo intravaginal) os valores percentuais dos diferentes protocolos estudados foram semelhantes (p > 0,05) com exceção dos valores do protocolo 6 que diferiu (p < 0,05).

Na classe 2 (estro no histórico em período de 16 a 65 dias antes da colocação do dispositivo intravaginal) os valores percentuais do protocolo 1

foram semelhantes aos demais protocolos ($p>0,05$). Os valores percentuais do protocolo 2 foram diferentes dos demais protocolos ($p<0,05$) exceto ao valores percentuais do protocolo 1 ($p>0,05$). Já, os valores percentuais do protocolo 3 foram semelhantes aos valores dos protocolos 1, 2, 4 e 6 ($p>0,05$) e diferiram dos valores percentuais do protocolo 5 ($p<0,05$).

Tabela 5- Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV de acordo com a classe de intervalo do estro a colocação do implante (CLAPROT), e tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	CLAPROT				Geral
	0 (sem histórico)	1 (< 16 dias)	2 (17-65 dias)	3 (> 65 dias)	
1	270/403 (67,0) ^{aA}	221/287 (77,0) ^{aBC}	163/220 (74,1) ^{aAC}	44/64 (68,7) ^{aAC}	698/974 (71,7)
2	133/199 (66,8) ^{aA}	78/104 (75,0) ^{aAB}	78/123 (63,4) ^{abAB}	17/31 (54,8) ^{abAC}	306/457 (67,0)
3	203/270 (75,2) ^{bA}	205/271 (75,6) ^{aA}	111/143 (77,6) ^{acdA}	48/67 (71,6) ^{abA}	567/751 (75,5)
4	27/30 (90,0) ^{bA}	20/25 (80,0) ^{aA}	14/15 (93,3) ^{acdA}	12/16 (75,0) ^{abA}	73/86 (84,9)
5	141/185 (76,2) ^{bA}	242/320 (76,6) ^{aA}	190/262 (72,5) ^{acegA}	71/89 (80,0) ^{acA}	644/856 (75,2)
6	71/112 (63,4) ^{aA}	153/237 (64,6) ^{bA}	81/111 (73,0) ^{acdga}	40/65 (61,5) ^{abA}	345/525 (65,7)
Geral	845/1199 (70,5) ^A	919/1244 (73,9) ^A	637/874 (72,9) ^A	232/332 (69,9) ^A	2633/3649 (72,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais do protocolo 4 foram semelhantes aos valores dos protocolos 1, 3 e 6 ($p>0,05$) e diferiram dos valores dos protocolos 2 e 5 ($p<0,05$). Os valores percentuais do protocolo 5 foram semelhantes aos valores dos protocolos 1 e 6 ($p>0,05$) diferindo dos demais protocolos ($p<0,05$). Já os valores percentuais do protocolo 6 mostraram-se semelhantes a todos os valores percentuais dos demais protocolos ($p>0,05$), exceto ao valores do protocolo 2 ($p<0,05$).

Na classe 3 (estro no histórico com período ≥ 66 dias dias antes da colocação do dispositivo intravaginal) os valores percentuais do protocolo 1 foram semelhantes aos demais protocolos ($p>0,05$). O mesmo comportamento foi observado para os valores percentuais dos protocolos 2, 3, 4 e 6 em relação aos demais protocolos. Já, os valores percentuais do protocolo 5 diferiram de todos os protocolos ($p<0,05$) exceto ao valores percentuais do protocolo 1 ($p>0,05$).

Quando se analisou as classes de intervalo de estro por protocolo, verificou-se efeito das classes de intervalo somente nos protocolos 1 e 2 ($p<0,05$) onde as fêmeas da classe 0 apresentaram valores piores que os valores da classe 1 ($p<0,05$), não diferindo das classes 2 e 3 ($p>0,05$). Não houve diferença entre as classes 1, 2 e 3 ($p>0,05$). No protocolo 2, a classe 3 diferiu das classes 1 e 2 ($p<0,05$), não sendo observado diferença entre as demais classes de intervalo de estro ($p>0,05$). Esses resultados mostram que para alguns protocolos de sincronização, que fêmeas que estejam ciclando na ocasião da colocação do dispositivo intravaginal, apresentam melhor aproveitamento de receptoras que animais que não estejam ciclando. No entanto, quando os dados foram analisados sem considerar os diferentes protocolos de sincronização, não se observou efeito das classes de intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal ($p>0,05$), indicando que todos os protocolos empregados, independentes da atividade cíclica prévia das receptoras, mostraram-se capazes de sincronizar as receptoras.

Quando se empregou a $\text{PGF2}\alpha$ no momento da colocação e 400 UI de eCG na retirada do dispositivo (protocolos 1 e 3) a taxa de aproveitamento mostrou-se satisfatória (71,7 e 75,5%). Mesmo sendo inferiores aos observados por Rezende e colaboradores (2005), os valores obtidos no presente estudo, corroboram ao estudo realizado pelos autores, que compararam a aplicação de

PGF2 α no início de protocolo de sincronização e diferentes doses de eCG. Todas as fêmeas foram previamente diagnosticadas como cíclicas (presença de CL). Ao comparar o grupo que recebeu o PGF2 α com o que não recebeu, não obtiveram diferença na taxa de aproveitamento, concepção, prenhez (Grupos com vs. sem PGF2 α no dia 0 e 300 vs. 400 UI de eCG no dia 8. A dosagem de 300 UI comparada a de 400 UI de eCG apresentou resultados semelhantes, podendo ser usada a primeira dosagem em protocolo de TETF em novilhas no que diz respeito a taxa de aproveitamento de receptoras.

No presente estudo, a dosagem de 400 UI de eCG, não apresentou melhor resultado que 300 UI de eCG, indicando que esta última é suficiente para uma resposta satisfatória de aproveitamento de receptoras. Segundo Baruselli e colaboradores (2000) e Bó e colaboradores (2002) há um efeito positivo do uso de eCG em protocolos de transferência de embriões em tempo fixo, por aumentar a taxa de aproveitamento das receptoras e induzir a formação de um corpo lúteo que produz mais progesterona no dia da inovulação dos embriões. Portanto, pode-se economizar $\frac{1}{4}$ da dose empregada nos protocolos 1, 3.

Os valores percentuais para taxa de aproveitamento de receptoras de acordo com a classificação uterina antes da colocação do dispositivo intravaginal estão sumariados na tabela 6.

Na classificação uterina 0 (úteros não avaliados), não se observou efeito da condição uterina e dos diferentes protocolos de sincronização sobre a taxa de aproveitamento de receptoras ($p > 0,05$) exceto aos protocolos 3 e 6 que diferiram entre si ($p < 0,05$). Entre os dois protocolos chama atenção a uso da PGF2 α no dia da inserção e dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal no protocolo 3 e no protocolo 6 a PGF2 α é utilizada somente no momento da retirada do protocolo (figura 1).

A PGF2 α propicia que na ocasião da retirada do dispositivo, ocorra queda da concentração de progesterona de forma abrupta, permitindo maior crescimento folicular e conseqüente formação do corpo lúteo com maior massa corpórea. Provavelmente, grande parte das fêmeas que compuseram esta classe de condição uterina estaria cíclica na ocasião da colocação do dispositivo intravaginal, embora não tenham sido avaliadas nesta ocasião.

Nas classificações uterina 1 e 2 não foram analisadas por apresentar baixo número de fêmeas no classe experimental.

Nas classificações uterina 3 (útero normal) observou-se diferenças nos valores percentuais entre os protocolos. Os valores percentuais do protocolo 1 diferiram dos valores dos protocolos 4 e 5 ($p < 0,05$), sendo semelhantes aos valores dos protocolos 2, 3 e 6 ($p > 0,05$). No protocolo 2, os valores percentuais diferiram dos valores dos protocolos 3, 4 e 5 ($p < 0,05$), sendo semelhantes aos valores dos protocolos 1, e 6 ($p > 0,05$). No protocolo 3, os valores percentuais diferiram dos valores dos protocolos 2, 4 e 5 ($p < 0,05$), sendo semelhantes aos valores dos protocolos 1 e 6 ($p > 0,05$). No protocolo 4, os valores percentuais diferiram dos valores dos protocolos 1, 3 e 6 ($p < 0,05$), sendo semelhantes aos valores dos protocolos 2, e 5 ($p > 0,05$). No protocolo 5, os valores percentuais diferiram dos valores dos protocolos 1, 2, 3 e 6

Tabela 6: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com a classificação uterina, e o tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Classificação uterina					Geral
	0	2	3	4	5	
1	59/83 (71,1) ^{aA}	10/16 (62,5) ^A	203/298 (68,1) ^{aAB}	65/100 (65,0) ^{aAB}	361/477 (75,7) ^{aAC}	698/974 (71,7)
2	17/25 (68,0) ^{aA}	9/9 (100)*	108/172 (62,8) ^{acA}	21/40 (52,5) ^{acAB}	151/211 (71,6) ^{aAC}	306/457 (67,0)
3	82/107 (76,6) ^{abA}	9/9 (100)*	187/247 (75,7) ^{adA}	55/80 (68,7) ^{acA}	234/308 (76,0) ^{aA}	697/751 (75,5)
4	35/41 (85,4) ^{aA}	-	19/21 (90,5) ^{bA}	2/2 (100)*	17/22 (77,3) ^{acA}	73/86 (84,9)
5	174/248 (70,2) ^{aA}	8/8 (100)*	147/183 (80,3) ^{bb}	51/66 (77,3) ^{adA}	264/358 (75,2) ^{aA}	644/856 (75,2)
6	92/147 (62,6) ^{acA}	-	46/71 (64,8) ^{aA}	35/41 (85,4) ^{bdB}	172/266 (64,7) ^{bcA}	345/525 (65,7)
Geral	459/651 (70,5) ^A	36/42 (85,7) ^{ABC}	710/992 (71,6) ^{AC}	229/329 (69,6) ^{AC}	1199/1635 (73,3) ^{AC}	2633/3649 (72,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Classificação uterina = 0: animais com o útero não avaliado; Classificação uterina = 2 útero pouco flácido ; Classificação uterina = 3 útero normal; Classificação uterina = 4 útero pouco turgido; Classificação uterina = 5 útero turgido

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias;

Protocolo 2: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

($p < 0,05$), sendo semelhantes aos valores do protocolo 4 ($p > 0,05$) e no protocolo 6, os valores percentuais diferiram dos valores dos protocolos 4 e 5 ($p < 0,05$), sendo semelhantes aos valores dos protocolos 1, 2 e 3 ($p > 0,05$).

Na classificação uterina 4 (útero pouco túrgido) houve diferença dos valores dos protocolos 5 e 6 com os valores dos protocolos 1, 2, 3 ($p < 0,05$) e não foi observado diferença entre os protocolos 5 e 6 ($p > 0,05$) e nem entre os protocolos 1, 2 e 3 ($p > 0,05$). O protocolo 4 não foi avaliado por possuir número de fêmeas pequeno. Já na classificação uterina igual a 5 (útero túrgido) somente houve diferença do protocolo 6 com os demais protocolos ($p < 0,05$) com exceção ao protocolo 4 que foi semelhante ($p > 0,05$).

Quando se avalia o efeito da condição uterina na ocasião da colocação do dispositivo intravaginal por protocolo, no protocolo 1, somente o útero túrgido (classe 5) diferiu das classes uterina 3 (útero normal) e 4 (útero pouco túrgido) ($p < 0,05$). No protocolo 2, observou-se diferença somente entre as classes de condição uterina 4 e 5 ($p < 0,05$). Nos protocolos 3 e 4, não houve diferença entre os valores percentuais das classes uterinas ($p > 0,05$). No protocolo 5, os valores percentuais da classe uterina 3 (útero normal) diferiu das demais classes de condição uterina (0, 4 e 5) ($p < 0,05$). No protocolo 6, somente a classe uterina igual a 4 (pouco túrgido) diferiu dos demais classes de condição uterina ($p < 0,05$).

Quando se avalia o efeito da condição uterina na ocasião da colocação do dispositivo intravaginal somente por classe de condição uterina, sem considerar os protocolos de sincronização, verificou-se efeito somente da classe uterina 2 (útero pouco flácido) que apresentou valores percentuais maiores que as demais classes uterinas ($p < 0,05$).

Os valores percentuais nos protocolos 1 e 2 são um indicativo que animais que se encontram próximo ao cio ou que tenha ovulado a pouco tempo, cujo útero ainda se apresenta sobre efeito estrogênico apresentam melhores resultados de aproveitamento de receptoras em relação aos animais que estão na fase de diestro. No entanto, ressalta-se que em todas as classes de condição uterina houve resposta satisfatória, sugerindo que esta característica provavelmente deve influenciar em baixa magnitude a taxa de aproveitamento de receptoras em programa de transferência de embriões.

Esses resultados mostram o quanto é importante avaliar não somente a atividade ovariana para a posterior colocação do dispositivo intravaginal, mas também o útero, já que este também influencia na taxa de aproveitamento de receptoras. Provavelmente, o útero flácido se encontra sobre efeito de baixa concentração de progesterona, oriunda de um corpo lúteo fracamente luteinizado, afetando precocemente os pulsos de $\text{PGF2}\alpha$ liberados pelo endométrio. Em uma fêmea cíclica, a progesterona liberada pelo corpo lúteo, estimula a proliferação endometrial (criando um ambiente uterino mais adequado ao embrião) e também diminui o número de receptores à ocitocina e estrógeno, evitando que o endométrio produza picos de $\text{PGF2}\alpha$ antes do dia 16 do ciclo estral, dessa forma, os ciclos estrais subseqüentes são de duração normal. Já o útero túrgido se encontra sobre efeito do estrógeno, que aumenta os receptores endometriais para ocitocina e conseqüentemente favorece o pico de $\text{PGF2}\alpha$ lisando o CL que estiver responsivo (sete a dezesseis dias) favorecendo a resposta do protocolo.

Os valores percentuais para taxa de aproveitamento de receptoras de acordo com a classificação ovariana antes da colocação do dispositivo intravaginal estão sumariados na Tabela 7.

A classificação ovariana 0 (ovários não avaliados) influenciou somente a resposta a sincronização de estro nos protocolos 4 e 6, onde os valores percentuais do protocolo 4 foi semelhante somente ao protocolo 3 ($p>0,05$) diferindo dos valores dos demais protocolos ($p<0,05$) e os valores percentuais do protocolo 6 diferiu dos valores percentuais dos protocolos 3 e 4 ($p<0,05$). Não houve diferença entre os valores dos demais protocolos empregados ($p>0,05$).

A classe de atividade ovariana 1 (ovários pequenos) não foram identificados no presente estudo.

Na classificação ovariana igual a 2 (ovários com nenhuma estrutura palpável) observou-se efeito da atividade ovariana sobre protocolo 5, no qual apresentou diferença dos valores percentuais dos demais protocolos ($p<0,05$).

Os valores percentuais de aproveitamento de receptoras não diferiram entre os demais protocolos de sincronização ($p>0,05$).

Tabela 7: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com a classificação ovariana antes da inserção e o tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Classificação ovariana					Geral
	0	1	2	3	4	
1	51/75 (68,0) ^{aA}	1/1 (100)*	14/26 (53,8) ^{aAB}	481/663 (72,5) ^{aAC}	151/209 (72,2) ^{aA}	698/974 (71,7)
2	15/22 (68,2) ^{aA}	2/2 (100)*	9/15 (60,0) ^{aA}	236/357 (66,1) ^{bA}	44/61 (72,1) ^{acA}	306/457 (67,0)
3	82/107 (76,6) ^{acA}	-*	15/26 (57,7) ^{aAB}	367/494 (74,3) ^{aAB}	103/124 (83,1) ^{bcdAC}	567/751 (75,5)
4	35/41 (85,4) ^{bcA}	-*	-*	35/42 (83,3) ^{aA}	3/3 (100)*	73/86 (84,9)
5	163/231 (70,6) ^{aA}	-*	22/25 (88,0) ^{bAC}	381/504 (75,6) ^{aAC}	78/96 (81,2) ^{acdBC}	644/856 (75,2)
6	83/132 (62,9) ^{adA}	-*	6/7 (85,7)*	212/329 (64,4) ^{bA}	44/57 (77,2) ^{acdA}	345/525 (65,7)
Geral	429/608 (70,6) ^A	3/3 (100)*	66/99 (66,7) ^A	1712/2389 (71,7) ^A	423/550 (76,9) ^B	2633/3649 (72,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84; P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84; P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Classificação ovariana = **0**: ovário não foi avaliado; Classificação ovariana = **1** ovários classificados como pequenos ; Classificação ovariana = **2** ovário onde não foi observado nada digno de nota ; Classificação ovariana = **3** Ovários com atividade (folículos); Classificação ovariana = **4** presença de corpo lúteo

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias;

Protocolo 2: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Na classificação ovariana 3 (ovários apresentando crescimento folicular) somente os protocolos 2 e 6 mostraram-se influenciados pela atividade ovariana, onde seus valores percentuais diferiram dos valores dos demais protocolos ($p < 0,05$), não sendo observado diferença entre dois protocolos ($p > 0,05$).

Na classificação ovariana igual a 4 (ovários apresentando corpo lúteo) somente observou diferença entre os valores percentuais entre os protocolos 1 e 3 ($p < 0,05$).

Quando se avaliou as classificações ovarianas por protocolo, esta característica influenciou apenas alguns protocolos de sincronização. No protocolo 1, observou-se diferença somente entre os valores percentuais obtidos nas classes 2 e 3 (ovários com nenhuma estrutura palpável e ovários apresentando folículos) ($p < 0,05$). Os valores percentuais dos protocolos 2, 4 e 6 resultaram em valores percentuais semelhantes entre as classes de atividade ovariana ($p > 0,05$). No protocolo 3, observou-se diferença dos valores percentuais da classe 4 (ovários com corpo lúteo) dos valores obtidos nas classes 2 e 3 ($p < 0,05$). e no protocolo 5, houve diferença somente entre os valores percentuais das classes 0 e 4 (ovários não avaliados e ovários com corpo lúteo) ($p < 0,05$). A antecipação da aplicação da $PGF_{2\alpha}$ dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal antecipou a lise do corpo lúteo presente na ocasião da colocação do dispositivo e após a retirada do dispositivo, este procedimento permite o crescimento folicular sem nenhuma ação inibitória de concentrações de progesterona endógenas, propiciando o surgimento de uma nova onda de crescimento folicular precocemente e de maior diâmetro do folículo dominante e conseqüente maior formação de tecido luteal.

O protocolo 3 é o que provavelmente, possui uma menor concentração de progesterona, visto que utiliza-se uma dose de $PGF_{2\alpha}$ no dia da colocação do dispositivo intravaginal e no dia sete do protocolo, e a dosagem de eCG foi de 400 UI. Ou seja, essa baixa concentração de progesterona, favorece o aumento no pico de LH pre-ovulatório nas receptoras após a retirada do dispositivo, e uma melhor resposta na produção de tecido luteal melhor que os outros grupos.

Esses dados são indicativos que a presença do corpo lúteo antes da colocação do dispositivo intravaginal apresenta melhor resultado que os que

não apresentam corpo lúteo. Fato esse confirmado por Rodrigues e colaboradores (2010) ao determinarem nos seus estudos que a ausência de CL no dia 0 do protocolo resulta em uma diminuição de 14% na taxa de receptoras inovuladas e reduzida taxa de prenhez aos 30 dias em programa de TETF. Entretanto, segundo os autores, a presença de CL antes de iniciar o protocolo hormonal parece não afetar a taxa de prenhez aos 30 e 60 dias de gestação.

No presente estudo quando se avaliou o efeito da atividade ovariana sobre a taxa de aproveitamento de receptoras, independente dos protocolos empregados, observou-se efeito somente da classe 4 (ovários com corpo lúteo) que diferiu dos valores percentuais das demais classificações ovariana ($p < 0,05$).

Entretanto, no presente estudo as receptoras sem CL ao iniciar o protocolo de sincronização apresentam taxas de prenhez similar às fêmeas com CL no início do protocolo. No entanto, a taxa de receptoras inovuladas é maior no grupo de fêmeas que apresentam CL ao iniciar o protocolo.

Dias e colaboradores (2006) utilizaram novilhas ciclando (ciclicidade avaliada pela presença de CL) divididas em dois grupos: grupo controle: PGF2 α no dia 0 e grupo sincronizado com CIDR. Nos dois grupos somente foram inovuladas novilhas que apresentaram comportamento de estro e CL à palpação retal. Nos animais dos grupos controle e com CIDR[®] que apresentaram estro, não foi detectado efeito de protocolos na presença de CL no dia 6, no número de animais inovulados, na taxa de concepção, e na concentração de progesterona. Segundo Dias e seus colaboradores (2006) a utilização do protocolo com CIDR[®] em animais ciclando não altera a taxa de prenhez em animais que apresentaram estro e que se pode maximizar o aproveitamento de receptoras, independente de terem ou não apresentado estro sincronizado, pois a concentração de progesterona no dia 6 após o uso do protocolo não foi alterada.

As taxas de aproveitamento em receptoras de acordo com número de utilização do dispositivo intravaginal estão sumariadas na tabela 8. A reutilização do dispositivo não influenciou a respostas das fêmeas aos protocolos de sincronização, em todas as classes de número de utilização do dispositivo, houve uma resposta satisfatória de sincronização de estro (73,1%). No geral não houve diferença ($p > 0,05$) quando se utilizou o dispositivo apenas

uma, duas, três ou quatro vezes (73,1; 70,0; 75,4 e 74,8%, respectivamente). Com exceção de duas para duas vezes de uso que se mostraram diferentes ($p < 0,05$). Em consonância com os estudos de Dias e colaboradores (2009) onde a taxa de ovulação apresentou melhores resultados no dispositivo de três.

Com uso do dispositivo novo somente quando se utilizou o protocolo 6, houve diferença entre os valores percentuais de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$). Na classe 2 (utilizado duas vezes) observou-se diferença somente entre os valores dos protocolos 4 e 6 ($p < 0,05$). Com o dispositivo utilizado três vezes registrou-se os melhores resultados quando empregado no protocolo 4 (95,8% $p < 0,05$) e observou diferença entre os valores obtidos no protocolo 3 e 6 (77,5 vs 68,5%; $p < 0,05$). Com dispositivo utilizado por 4 vezes houve diferença somente entre os valores dos protocolos 5 e 6 ($p < 0,05$).

Quando avaliado o número de utilização do dispositivo intravaginal por protocolo, somente observou efeito quando se empregou os protocolos 4 e 6 ($p < 0,05$), sendo que no protocolo 4, os valores percentuais de aproveitamento de receptoras da classe 3 diferiram ($p < 0,05$) de todas as classes, exceto da classe 2 ($p > 0,05$). Já, no protocolo 6, os valores percentuais do dispositivo novo diferiram dos valores do utilizados três e quatro vezes ($p < 0,05$) e os valores percentuais dos utilizados duas vezes foram semelhantes as todas as classes ($p < 0,05$).

O dispositivo intravaginal de primeiro uso apresentou resultado igual ao dispositivo intravaginal de segundo uso, o que é também foi verificado em um estudo com protocolo semelhante realizado por Sá Filho e colaboradores (2009) que reutilizou o dispositivo intravaginal por diferentes vezes. Todas as novilhas com CL no dia da TE receberam embriões PIV frescos (Graus 1 e 2). Não houve efeito dos protocolos no diâmetro do folículo ovulatório, taxa de sincronização, diâmetro do CL e concentração sérica de P4.

Comparando entre os números independentes do protocolo (Geral) o protocolo de terceiro uso apresenta melhor resultado que o segundo uso ($p < 0,05$). Mesmo usando outro tipo de dispositivo intravaginal, o resultado do presente estudo não corroboram aos estudos de Peres e colaboradores (2005) que comparando protocolos de sincronização de estro em receptoras *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* com implantes intravaginais de diferentes concentrações de progesterona (0,5 Triu- B monodose e 1 g Triu B) ambas

recebendo 150 mg de cloprostenol e 400 UI de eCG no D5, retirada no D8 e aplicação de 2 mg de BE no D9, não observaram diferença na taxa de aproveitamento de receptoras.

Tabela 8: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com numero de utilização do dispositivo intravaginal e o tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Número de utilização do dispositivo intravaginal				Geral
	Novo	Segundo uso	Terceiro uso	Quarto uso	
1	178/244 (72,9) ^{aA}	67/92 (72,8) ^{aA}	20/28 (71,4) ^{aA}	1/3 (33,3)*	266/367 (72,5)
2	-	33/43 (76,7) ^{a*}	-	-	33/43 (76,7)
3	182/237 (76,8) ^{aA}	79/115 (68,7) ^{aA}	190/245 (77,5) ^{acA}	26/35 (74,3) ^{aA}	477/632 (75,5)
4	8/11 (72,7) ^{acA}	37/45 (82,2) ^{abAC}	23/24 (95,8) ^{bBC}	5/6 (83,3) ^{aA}	73/86 (84,9)
5	133/169 (78,7) ^{aA}	188/275 (68,4) ^{abC}	191/252 (75,8) ^{aACD}	79/92 (85,9) ^{abACE}	591/788 (75,0)
6	39/78 (50,0) ^{bcA}	65/100 (65,0) ^{acAB}	102/149 (68,5) ^{adB}	139/198 (70,2) ^{acB}	345/525 (65,7)
Geral	540/739 (73,1) ^A	469/670 (70,0) ^{AB}	526/698 (75,4) ^{AC}	250/334 (74,8) ^A	1785/2441 (73,1)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais da taxa de aproveitamento de receptoras de acordo com o status reprodutivo antes da inserção do dispositivo de progesterona e tipo de protocolo de sincronização de estro estão sumariados na tabela 9.

Quando se avaliou os valores percentuais de forma geral, independentes dos protocolos empregados, não foi observada diferença entre os diferentes status reprodutivos ($p > 0,05$) demonstrando nenhum efeito do status reprodutivo na ocasião da sincronização de estro sobre a taxa de aproveitamento de receptoras e sim sobre o protocolo de sincronização empregado.

Na classe 1 do status reprodutivo (fêmeas apresentando ciclos estrais regulares) não se observou diferença entre os valores percentuais das classes 1, 2, 3 e 4 ($p > 0,05$) e os valores percentuais das classes 1 mostram-se diferentes dos valores percentuais das classes 5 e 6 ($p < 0,05$) não sendo observado diferença entre os demais protocolos ($p < 0,05$).

Na classe 2 do status reprodutivo (fêmeas apresentando ciclos estrais irregulares) os valores percentuais dos protocolos 1 e 2 foram semelhantes entre si ($p > 0,05$) e diferiram dos valores percentuais dos demais protocolos de sincronização ($p < 0,05$). Os valores percentuais dos demais protocolos diferiram entre si ($p < 0,05$) exceto os valores do protocolo 5 que é semelhante aos valores percentuais obtidos no protocolo 4 ($p > 0,05$).

Na classe 3 do status reprodutivo (fêmeas protocoladas anteriormente e diagnosticadas como não gestantes) não se observou diferença entre os valores percentuais dos diferentes protocolos de sincronização ($p > 0,05$) exceto pela diferença entre os protocolos 4 e 5 ($p < 0,05$).

Quando se analisou as diferentes classes de status reprodutivo dentro de um mesmo protocolo, foi observado efeito do status reprodutivo sobre a taxa de aproveitamento de receptoras ($p < 0,05$). Nos protocolos 1, 4, 5 e 6 os valores percentuais da classe 1 (fêmeas com ciclos regulares) diferiram ($p < 0,05$) dos valores da classe 2 (fêmeas com ciclos irregulares) e classe 3 (fêmeas protocoladas anteriormente e diagnosticadas como não gestantes), exceto os valores da classe 3 que foram semelhantes aos valores da classe 1 ($p > 0,05$). Nos protocolos 2 e 3 não se observou diferença entre os valores percentuais das classes de status reprodutivo das receptoras no momento da colocação do dispositivo intravaginal ($p > 0,05$).

Tabela 9: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com o estado reprodutivo antes da inserção do dispositivo de progesterona e tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Status reprodutivo			
	1	2	3	Geral
1	103/126 (81,7) ^{aA}	553/794 (69,6) ^{aBC}	42/54 (77,8) ^{aAC}	698/974 (71,7)
2	23/29 (79,3) ^{acA}	269/408 (65,9) ^{aA}	14/20 (70,0) ^{aA}	306/457 (67,0)
3	49/65 (75,4) ^{acA}	415/549 (75,6) ^{bcA}	103/137 (75,2) ^{aA}	567/751 (75,5)
4	5/9 (55,6) ^{acA}	40/45 (88,9) ^{bdeB}	28/32 (87,5) ^{abB}	73/86 (84,9)
5	77/117 (65,6) ^{bcA}	385/483 (79,7) ^{bdeB}	182/256 (71,1) ^{acB}	644/856 (75,2)
6	57/82 (69,5) ^{bcA}	224/391 (62,1) ^{bdfB}	64/82 (78,1) ^{aA}	345/525 (65,7)
Geral	314/428 (73,4) ^A	1886/2640 (71,4) ^A	433/581 (74,5) ^A	2633/3649 (72,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84; P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84; P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Classificação do status reprodutivo= **1**: estro regular; Classificação do status reprodutivo=**2**:estro irregular; Classificação do status reprodutivo= **3**: Fêmea protocolada anteriormente e diagnosticada como não gestante.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2**: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3**: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4**: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5**: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6**: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais da taxa de aproveitamento em receptoras de acordo com o número de aplicações de PGF2α no histórico, e tipo de protocolo de sincronização de estro estão sumariados na tabela 10.

Analisando os valores percentuais sem considerar os diferentes protocolos empregados no presente estudo, o uso ou não PGF2α previamente ao momento da colocação do dispositivo intravaginal influenciou o resultado de taxa de aproveitamento de receptoras. A classe igual a 0 (fêmeas sem histórico de aplicação de PGF2α) apresentou os maiores valores percentuais de taxa de aproveitamento de receptoras que as classes 1 (fêmeas com uma aplicação de PGF2α no histórico) e da classe 2 (fêmeas com duas aplicações de PGF2α no histórico).

Tabela 10: Taxa de aproveitamento em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com o número de aplicações de PGF2 α no histórico, e tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Numero de aplicações de PGF2 α			Geral
	0	1	2	
1	487/659 (73,9) ^{aA}	187/274 (68,3) ^{aA}	24/41 (58,5) ^{aB}	698/974 (71,7)
2	135/207 (65,2) ^{bcA}	155/224 (69,2) ^{aA}	16/26 (61,5) ^{aA}	306/457 (67,0)
3	549/728 (75,4) ^{adeA}	18/23 (78,3) ^{aA}	-	567/751 (75,5)
4	73/86 (84,9) ^{bde*}	-	-	73/86 (84,9)
5	644/856 (75,2) ^{ade*}	-	-	644/856 (75,2)
6	332/500 (66,4) ^{bcfA}	12/23 (52,2) ^{aB}	1/2 (50,0) *	345/525 (65,7)
Geral	2220/3036 (73,1) ^A	372/544 (68,4) ^B	41/69 (59,4) ^B	2633/3649 (72,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Aplicação de PGF2 α = 0: sem aplicações de PGF2 α no histórico antes da colocação do dispositivo intravaginal;

Aplicação de PGF2 α = 1: com uma aplicação de PGF2 α no histórico antes da colocação do dispositivo intravaginal;

Aplicação de PGF2 α = 2: com duas aplicações de PGF2 α no histórico antes da colocação do implante.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 μ g de PGF2 α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 μ g de PGF2 α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 μ g de PGF2 α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 μ g de PGF2 α no momento da inserção do dispositivo, 500 μ g de PGF2 α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 μ g de PGF2 α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 μ g de PGF2 α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 μ g de PGF2 α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Quando se analisou as taxas de aproveitamento de receptoras de acordo com as classes e protocolos, não foi observado diferença entre os valores percentuais dos protocolos na classe 1 e 2. O presente estudo não registrou animais com uso de uma ou duas vezes de PGF2 α no histórico, nos protocolos 4 e 5 e na classe 2 do protocolo 3.

Analisando o histórico das receptoras quanto a aplicação de PGF2 α antes da colocação do dispositivo intravaginal, as receptoras que não receberam PGF2 α antes da colocação do dispositivo intravaginal (Classe 0), as receptoras apresentaram respostas diferentes nos diferentes protocolos empregado. Na classe 0 os valores percentuais do protocolo 1 diferiram dos valores percentuais dos protocolos 2, 4 e 6 ($p < 0,05$) sendo semelhantes aos valores dos protocolos 3 e 5 ($p > 0,05$). No protocolo 2, os valores percentuais obtidos para classe 0, diferiram dos protocolos 1, 3, 4 e 5 ($p < 0,05$) sendo semelhante aos valores percentuais do protocolo 6 ($p > 0,05$). No protocolo 3, os valores percentuais para a classe 0 diferiram apenas dos valores percentuais dos protocolos 2 e 6 ($p < 0,05$). No protocolo 4, os valores percentuais para a classe diferiram dos valores percentuais dos protocolos 1, 2, e 6 ($p < 0,05$),

sendo semelhantes aos valores percentuais dos protocolos 3 e 5 ($p > 0,05$). No protocolo 5, os valores percentuais para a classe 0 (fêmeas sem histórico de aplicação de PGF2 α) diferiram dos valores percentuais dos protocolos 2 e 6 ($p < 0,05$) sendo semelhantes aos valores percentuais dos protocolos 1, 3 e 4 ($p > 0,05$). No protocolo 6, os valores percentuais para a classe 0 (fêmeas sem histórico de aplicação de PGF2 α) diferiram dos valores percentuais dos protocolos 1, 3 4 e 5 ($p < 0,05$) sendo semelhantes aos valores percentuais dos protocolos 2 ($p > 0,05$).

Na Classe 1 (fêmeas com uma aplicação de PGF2 α no histórico) e na Classe 2 (fêmeas com duas aplicação de PGF2 α no histórico) não se observou diferenças nos valores percentuais das taxas de aproveitamento de receptoras nos diferentes protocolos empregados ($p > 0,05$).

Quando analisado o efeito do uso ou não da PGF2 α previamente a colocação do dispositivo intravaginal sobre o tipo de protocolo, verificou-se o efeito desta característica na taxa de aproveitamento nos protocolos 1 e 6. No protocolo 1, os valores percentuais da classe 2 diferiram dos valores da classe 0 e 1 ($p < 0,05$) não sendo observado diferença entre os dois últimos ($p > 0,05$). No protocolo 6, os valores percentuais da classe 0 diferiram dos valores das classes 1 e 2 ($p < 0,05$) não sendo observado diferença entre os dois últimos ($p > 0,05$).

Os valores percentuais da taxa de aproveitamento de receptoras, de acordo com a resposta ao uso de protocolos de sincronização de estro no histórico das fêmeas estão sumariados na tabela 11.

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram que a resposta a protocolos de sincronização não são influenciados por tratamentos prévios de sincronização de estro ou aqueles tratamentos em que ocorreram perdas dos dispositivos intravaginais ($p > 0,05$). Esses resultados indicam que fêmeas que não responderam a protocolos de sincronização, fêmeas involuadas e que não ficaram gestantes podem ser submetidas a programas de sincronização de estro para transferências de embriões em tempo fixo (TETF).

Tabela 11: Taxa de aproveitamento em receptoras de embriões de PIV, de acordo com a resposta ao uso de protocolos de sincronização de estro no histórico das fêmeas.

<i>Protocolo no histórico</i>	<i>Resposta ao protocolo no histórico</i>	<i>Taxa de aproveitamento</i>	
		Com CL	Geral
1	Sem CL	130/196 (66,3) ^a	196 (27,8)
	Com CL	341/508 (67,1) ^a	508 (72,2)
2	Sem CL	14/19 (73,7) ^a	19 (73,1)
	Com CL	3/7 (42,9) ^a	7 (26,9)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; P = 0,05).

^{*}n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual na linha.

Classificação do protocolo no histórico = **1**: protocolo completo; Classificação do protocolo no histórico = **2**: protocolo que perdeu o implante.

4. Conclusões:

Os protocolos utilizados interferiram na taxa de aproveitamento de receptoras, sendo que, quando se realizou aplicação de PGF2 α 48 horas antes da retirada do dispositivo intravaginal, obtiveram-se melhores respostas de sincronização de estro, sendo a resposta mais acentuada quando as fêmeas estavam cíclicas na ocasião do início das sincronizações;

Os intervalos do último estro à colocação do dispositivo intravaginal superiores a 90 dias influenciam negativamente as respostas aos protocolos de sincronização de estro de ovulação.

No entanto, as classes de intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal, as co-variáveis estudadas não apresentaram efeito marcante sobre a resposta de aproveitamento de receptoras;

As categorias de fêmeas (vacas e novilhas) não influenciaram a resposta aos tratamentos de sincronização de estro. Independente da categoria de fêmeas, a presença do corpo lúteo e tonicidade uterina flácida no momento da colocação do dispositivo intravaginal mostraram-se positivamente relacionado à resposta de aproveitamento de receptoras;

A reutilização por até 4 vezes do dispositivo intravaginal não apresenta influência sobre a taxa de aproveitamento em receptoras de embriões;

Fêmeas com históricos prévios de uso de protocolos de sincronização com uso de PGF2 α apresentam-se menos responsíveis a novos protocolos de sincronização, embora não apresentem o mesmo comportamento com relação aos protocolos com progestágenos associado a PGF2 α . Nas condições estudadas, receptoras que receberam PGF2 α 48 horas antes da retirada do implante apresentaram melhores índices de aproveitamento com maior número de animais aptos para a inovulação do embrião.

5. Referências Bibliográficas

BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; COSTA NETO, W.P.; GRANDINETTI, R.R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.28, p. 218, 2000.

BARUSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. ; MARQUES M. O.; RODRIGUES, C.A.; NASSER, L.F.; SILVA, R.C.P.; REIS, E.L.; SÁ FILHO, M.F. Efeito do tratamento com ECG conforme o escore de condição corporal na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p.228, 2004.

BARUSELLI, P. S; GIMENES, L. U; SALES, J. N. S. Revista Brasileira de Reprodução Animal. **Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas**, Belo Horizonte, v.31, n.2, p.205-211, abr./jun. 2007. < www.cbra.org.br >. Acesso em: 26 de nov de 2008.

BÓ G.A.; BARUSELLI P.S; MORENO D.; CUTAIA L.; CACCIA M.; TRÍBULO R.; TRÍBULO H.; MAPLETOFT RJ. The controle of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** 57: 53-72, 2002.

BÓ, G.A.; MORENO D.; CUATAIA L.; BARUSELLI P.S; REIS, EL. Manipulação hormonal do ciclo estral de doadoras e receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32 (suplemento): p. 1-22, 2004.

BORSATO E.A.; LUDWIG JR H.E.; SILVA D.R.M.; BARREIROS T.R.R.; SENEDA M.M. Comparação da taxa de prenhez de receptoras com corpo Lúteo compacto ou cavitário após protocolos de transferência em tempo fixo ou com PGF2 α **Acta Scientiae Veterinariae** 33(Suplemento 1): p.224, 2005.

BROADBENT PJ; STEWART M; DOLMAL DF. Recipient management and embryo transfer. **Theriogenology**; 35:125-140, 1991.

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

DIAS, C.C.; ALVIN, M.T.T.; SALIBA, W.P.; VASCONCELOS, J.L.M. protocolo para transferência de embriões fiv. **Acta Scientiae Veterinariae** 34 (suplemento 1): 534, 2006.

DIAS C.C.; WECHSLER F.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS J.L.M. progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin f2a treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology** 72 378–385, 2009 .

GONZÁLEZ F.H.D. Introdução a endocrinologia reprodutiva Veterinária. Laboratório de Bioquímica Clínica Animal. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, 2002.

LEMON, M. The effect of oestrogens alone or in association with progestagens on the formation and regression of the corpus luteum of the cycle cow. **Annales Biology Animal Biochimic and Biophys**, v.15, n.2, p.243-253, 1975.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. The regulatory of interferon- γ production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal Reproduction and Fertility** 54: 317-328, 1999.

MARQUES M.O.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; FIGUEIREDO T.B.; SORIA G.F.; BARUSELLI P.S. Efeito do tratamento com PGF 2α na inserção e/ou tratamento com ECG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção á Inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae** 1: p.287, [Abstract]. 2005

MOLLO, M.R.; RAMOS, A.F.; SIQUEIRA FILHO, E.R.; PIVATO, I.; SAUERESSIG, M.G.; RUMPF, R; SARTORI, R. comparação entre dois protocolos de sincronização da ovulação em receptoras de embrião bovino. **Actia Scientiae Veterinariae** v. 34 (suplemento 1) p. 497, 2006.

NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requeriments of dairy cattle. 7. Ed. Washington, D.C.: **National Academy of Sciences**, p. 381, 2001

PERES L.C.; PINCINATO D. BALLA E.; TRIBULO R.; BÓ G.A. Taxas de prenhez em receptoras de embriões tratadas com dispositivos intravaginais com diferentes concentrações de progesterona. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.219, 2005.

PIMENTEL, C. A. Ginecologia Bovina. **Curso de Ginecologia Bovina** Tapes/RS, p. 35, 11-15 de março de 2002.

QUEIROZ L.M.V.; Peixer M.A.S.; MALARD P.F.; SANTANA G.M.; XAVIER M.C.; SOUZA R.R. RASI, F. P. A. **Técnicas de superovulação, colheita e transferência de embriões em bovinos..** Dissertação (mestrado)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu. 27f. 2005.

RENESTO, A. **Associação das biotécnicas: aspiração folicular guiada por ultrassonografia e superovulação na produção in vitro e in vivo de embriões bovinos.** Tese (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita" - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Campus de Jaboticabal, Jaboticabal - SP. 59 f.2004.

REZENDE C.R.; NASSER L.F.; REZENDE, L.F.; NUNEZ M.M.; VIEIRA M.P.; AYRES H.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; MARUSELLI P.S. Efeito no momento da administração da PGF α e da dose de ECG na sincronização da

ovulação para inovulação em tempo fixo em novilhas. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.225, 2005.

RODRIGUES C.A.;TEIXEIRA A.A.; FERREIRA R.M.; AYRES H; MANCILHA R.F.; SOUZA A.H.; BARUSELLI P.S. Effect of fixed-time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder Holstein cows. **Animal Reproduction Science** 118 110–117, 2010.

SÁ FILHO, M. F.; REIS, E. L.; VIEL JR., J.O.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Follicular dynamics in anestrus lactating Nelore treated with ear implant, eCG and GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 235, 2004. Apresentado no Annual Meeting of Brazilian Technology Society.

SÁ FILHO O.G; MENEGHETTI M;. PERES R.F.G; LAMB G.C.; VASCONCELOS J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 72- 210–218, 2009.

SIQUEIRA, L.G.B.; VIANA, J.H.M.; DINIZ, E.S.; CAMARGO, L.S.; OLIVEIRA, A.P.;FERNANDES, C.A.C.; TORRES, C.A.A. área de tecido luteal em receptoras de embrião sincronizadas e com ovulação espontânea ou induzida por benzoato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae** v.34 (suplemento 1) p. 495, 2006.

Capítulo II: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embrião produzido *in vitro* (PIV), submetidas a diferentes protocolos de sincronização de estro.

Resumo:

Com o objetivo de estudar o efeito de diferentes protocolos de sincronização de estro sobre a taxa de prenhez em receptoras bovinas *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus*, inovuladas com embriões de produção *in vitro*, empregou 1933 receptoras (3.649 sincronizações) divididas em seis grupos. Protocolo 1: as receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol (BE) e 500 µg de cloprostenol, e um dispositivo intravaginal (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por oito dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal cada receptora recebeu uma dose única de 1,0 mg de Cipionato de estradiol (CE), 500 µg de Cloprostenol e 400 UI de gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). Protocolo 2: semelhante ao protocolo 1, porém sem a dose de 500 µg de Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. Protocolo 3: as receptoras receberam no momento da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona uma dose única de 500 µg de Cloprostenol e 2,0 mg de BE, sendo que o dispositivo permaneceu por nove dias. Dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal (dia sete) as fêmeas receberam uma dose única de 500 µg de Cloprostenol, e no momento da retirada do implante, receberam uma dose única de 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG. Protocolo 4: semelhante ao protocolo 3, porém sem a dose de 500 µg de Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. Protocolo 5: as receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona que permaneceu por 9 dias. Dois dias antes da retirada, no dia sete, receberam 500 µg de Cloprostenol e no momento da retirada do implante 1,0 mg de CE e 300 UI de eCG. Protocolo 6: as receptoras receberam 2,0 mg de BE, e um dispositivo intravaginal de progesterona que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal, cada receptora recebeu 1,0 mg de CE, 500 µg de Cloprostenol e 300 UI de eCG. Todas as receptoras que apresentaram corpo lúteo foram inovuladas em média dez dias após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, ou seja, por volta de oitavo dia após estro; e avaliadas por meio de ultrassonografia aos 58 dias após a fertilização *in vitro*

para o diagnóstico de gestação. Os dados qualitativos foram arranjados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de qui-quadrado a 5 % de probabilidade de erro. As fêmeas do protocolo 4 foram as que apresentaram melhores resultados na taxa de prenhez (66,7%), não sendo observado diferença entre as taxas obtidas pelas fêmeas dos demais protocolos. Quando empregou o dispositivo de segunda utilização, as fêmeas do protocolo 4 obtiveram o melhor resultado ($p < 0,05$), porém, não houve diferença na taxa de prenhez quanto ao número de reutilizações dos dispositivos dentro de cada protocolo ou quando não se considerou os diferentes protocolos ($p > 0,05$). As receptoras com sincronia de estro de -1 e 0 em relação a doadora apresentaram melhores resultados de prenhez que as demais classes de sincronia ($p < 0,05$). Não houve diferença entre as categorias de vacas e novilha de mesma classe de sincronia com relação à taxa de prenhez ($p > 0,05$). Tanto na condição uterina normal e atividade ovariana com presença de folículo, os valores percentuais obtidas pelas receptoras do protocolo 4 resultaram nas melhores taxa de prenhez ($p < 0,05$). Receptoras que não apresentaram estro ou manifestaram estro a menos de 16 dias da colocação do dispositivo intravaginal apresentaram os melhores resultados no protocolo 4 ($p < 0,05$) e as receptoras sem histórico de estro no início do experimento (s/c) tenderam a apresentar as piores taxas de prenhez, independente do protocolo empregado. As receptoras inovuladas com embriões em estágio de desenvolvimento blastocisto expandido resultaram em melhores taxas de prenhez que fêmeas inovuladas com embriões em estágio de desenvolvimento blastocistos, sendo que as receptoras do protocolo 4 apresentaram melhores valores de taxa de prenhez ($p < 0,05$). Conclui-se que a sincronia de estro entre doadora e receptora, categoria de fêmeas, condição uterina e atividade ovariana e classes e/ou intervalo de estros e estágio de desenvolvimento embrionário não influenciaram a resposta de sincronização e a taxa de prenhez em receptoras de embriões, independentes dos protocolos empregados, exceto o protocolo 4 (sem Cloprostenol na colocação do dispositivo).

Palavras-chaves: Bovinos, Embriões, PIV, CIDR

Pregnancy rate in bovine recipients of embryos produced in vitro (IVP) submitted to different estrus synchronization protocols

Abstract:

Aiming to study the effect of different estrus synchronization protocols on the pregnancy rate in *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* recipient cattles, transferred with in vitro produced embryos, this study used 1,933 recipients (3,649 synchronizations) divided into 6 groups. In group 1, recipients received 2.0 mg of estradiol benzoate (EB) and 500 mg of cloprostenol, in addition to an intravaginal device (1.9 g of progesterone) that remained for eight days. Upon withdrawal of the intravaginal device each recipient received a single dose of 1,0 mg of estradiol cypionate (EC), 500 mg of cloprostenol and 400 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG). In group 2, recipients received the same treatment as the first group, but without the 500 mg dose of cloprostenol at the placement of the progesterone intravaginal device. In group 3, recipients received at the time of intravaginal progesterone device placement a single dose of 500 mg cloprostenol and 2.0 mg of EB, and the device remained for nine days. Two days before the intravaginal device removal (day seven) females received a single dose of 500 mg cloprostenol, and at the time of device removal, received a single dose of 1,0 mg of EC and 400 IU of eCG. In group 4, the recipients received the same treatment as group 3, but without cloprostenol in the intravaginal progesterone device placement. In group 5, recipients received 2.0 mg of EB, and an intravaginal progesterone device that remained for eight days. Upon withdrawal of the intravaginal device, each recipient received 1,0 mg of EC, 500 mg of cloprostenol and 300 IU of eCG. In group 6, recipients received 2.0 mg of EB and an intravaginal progesterone device for nine days. Two days before the withdrawal, (day seven), received 500 mg of cloprostenol and at the time of device removal received 1,0 mg of EC and 300 IU of eCG. All recipients that had corpus luteum were transferred on average 10 days after implant removal, about eight days after estrus, and evaluated by ultrasonography 58 days after embryo transfer to pregnancy diagnosis. Qualitative data were arranged in contingency tables and analyzed by chi-square at 5% of probability. Protocol 4 females showed the best pregnancy rates (66.7%), without difference between the other groups. In the

second device using the protocol 4 showed the best result ($p < 0.05$), but There was no difference between the number of uses of the devices within each protocol and overall ($p > 0.05$). The recipients of -1 and 0 synchrony in relation to the donor, the females have better results than the other protocols ($p < 0.05$). There was no difference between the categories of cows and heifer from the same synchrony in relation to pregnancy rate ($p < 0.05$). Both in the normal uterine classification and ovarian activity in the presence of follicles, the percentages of Protocol 4 resulted the best pregnancy rate ($p < 0.05$). recipients who have not expresses estrus or expressed estrus less than 16 days of intravaginal device placement, showed the best results in protocol 4 compared to other synchronization protocols ($p < 0,05$). There was no difference between the used protocols in relation to pregnancy rates ($p > 0.05$), except to percentual values of protocol 4 that differed from protocols 5 and 6 ($p < 0.05$), indicating that the difference is related to the protocols used in occasion of the season. Transferred females with embryos at expanded blastocyst stage of development resulted in better pregnancy rates than females with embryos transferred at blastocyst stage of development, so protocol 4 yielded better values of pregnancy rate ($p < 0.05$). In general, protocol, stage of embryo development, estrus synchrony between donor and recipient, female category, uterine and ovarian classification and classes and/or estrus interval did not influence markedly the synchronization response and pregnancy rate in embryo recipients, independent of the employed protocols, except in group 4 (without cloprostenol at the device placement).

Keywords: Cattle, CIDR[®], embryos, IVP

1. Introdução:

Novos protocolos estão sendo utilizados com o objetivo de melhorar o índice de prenhez de novilhas e vacas mestiças, mantendo o nível de progesterona mais baixo durante o momento que antecede o pico pré ovulatório de LH, por meio da antecipação da aplicação de prostaglandinas (PFEIFER et al, 2009) e procura-se aumentar a dosagem de prostaglandina ao final do dispositivo associado ao uso de eCG (BARUSELLI, 2004).

O sucesso do estabelecimento da prenhez depende de um delicado balanço entre o mecanismo luteolítico inerente ao endométrio no fim do diestro e mecanismos anti-luteolíticos, modulados pelo conceito para alterar as funções endometriais e bloquear a luteólise (BINELLI et al, 2009).

Os novos protocolos visam obter uma resposta que resultem em melhores condições para que o embrião inovulado encontre um ambiente uterino mais propício à gestação, e resulte em uma melhor taxa de prenhez independente da técnica de transferência de produção do embrião (BORSATO et al, 2005).

Alguns estudos recentes comentam da importância do protocolo adequado e a influência do mesmo sobre determinada raça, além de importância da luteólise no momento adequado e como a concentração de progesterona do dispositivo influencia a taxa de prenhez (CARVALHO et al, 2008)

O objetivo desse estudo foi verificar a taxa de prenhez de fêmeas sincronizadas com protocolos de oito e nove dias de exposição a progesterona exógena e diferentes momentos da aplicação de prostaglandina e doses de eCG.

2. Material e métodos:

2.1 Local e seleção das doadoras

Este experimento foi realizado no município de Pedro Leopoldo-MG, latitude -19° 37' 05", longitude 44° 02' 35", altitude de 698 metros, pluviosidade media de 1267 mm e temperatura media de 21°C, no período de julho de 2008 a Julho de 2009.

Total de 1933 receptoras mestiças *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* foram utilizadas no presente experimento, totalizando 3649 tratamentos de sincronização. As receptoras eram avaliadas previamente quanto à condição uterina, atividade ovariana e ultimo estro antes da colocação do dispositivo intravaginal (este ultima dividida em duas variáveis: IEPROT- intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal e CLAPROT- classe de intervalo do estro à colocação do dispositivo intravaginal). As receptoras foram classificadas ainda quanto à categoria vaca ou novilha.

As fêmeas foram criadas em regime semi-intensivo, onde receberam cana-de-açúcar picada, concentrado de soja ou sorgo e caroço de algodão, complexo mineral reprodução associado a complexo vitamínico e balanceado segundo valores contidos na tabela de exigência do NRC (2001) e água *ad libitum*, durante todo período experimental.

Em relação ao Programa de Sanidade, somente compuseram o grupo experimental as fêmeas que apresentaram certificado negativo para as doenças IBR, BVD, Leptospirose, Tuberculose, Brucelose, Tricomonose.

2.2. Tratamentos

O Protocolo de sincronização foi iniciado em fase aleatória do ciclo estral das fêmeas bovinas. Total de 3.649 tratamentos, subdivididos em 6 protocolos de sincronização. No **Protocolo 1** foram realizados 974 tratamentos em 818 animais, média de 1,2 protocolos por animal. As receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol (Estrogin[®],Famavet) e 500 µg de cloprostenol (sincrosin, Vallée) via intramuscular, e um dispositivo intravaginal (CIDR[®],Pfizer, 1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal cada receptora recebeu uma dose única de 1,0 mg de Cipionato de estradiol (ECP[®], Pfizer), 500 µg de

Cloprostenol e 400 UI de eCG (Novormon[®], Syntex S.A), via intramuscular. No **Protocolo 2** foram realizados 457 tratamentos em 414 animais, média de 1,1 protocolos por animal. As receptoras receberam o mesmo tratamento que o primeiro grupo, porém sem a dose de 500 µg de Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No **Protocolo 3** foram realizados 751 tratamentos em 670 animais, média de 1,1 protocolos por animal. As receptoras receberam no momento da colocação do dispositivo intravaginal (1,9 g de Progesterona) uma dose única de 500 µg de Cloprostenol e 2,0 mg de Benzoato de estradiol, via intramuscular, sendo que o dispositivo permaneceu por 9 dias. Dois dias antes da retirada, no dia 7, receberam 500 µg de Cloprostenol, via intramuscular, e no momento da retirada do implante, receberam uma dose única de 1,0 mg de Cipionato de estradiol (CE) e 400 UI de eCG. No **Protocolo 4** foram realizadas 86 tratamentos em 86 animais. As fêmeas receberam o mesmo tratamento que o Protocolo 3, porém sem Cloprostenol na colocação do dispositivo intravaginal de progesterona. No **Protocolo 5** foram realizados 525 tratamentos em 435 animais, média de 1,2 protocolos por animal. As receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 9 dias. Dois dias antes da retirada, no dia 7, receberam 500 µg de Cloprostenol e no momento da retirada do dispositivo intravaginal, 1,0 mg de CE e 300 UI de eCG, por via intramuscular. No **Protocolo 6** foram realizados 856 tratamentos em 662 animais, média de 1,3 protocolos por animal. As receptoras receberam 2,0 mg de Benzoato de estradiol, via intramuscular e um dispositivo intravaginal de progesterona (1,9 g de Progesterona) que permaneceu por 8 dias. No momento da retirada do dispositivo intravaginal, cada receptora recebeu 1,0 mg de CE, 500 µg de Cloprostenol e 300 UI de eCG via intramuscular.

Todas as receptoras que apresentaram corpo lúteo foram inovuladas em média 10 dias após a retirada do implante, ou seja, por volta de 8 dias após estro; e avaliadas por meio de ultrasonografia aos 58 dias após a fertilização in vitro para o diagnóstico de gestação. O estro era observado por uma pessoa devidamente treinada para observação do mesmo no período da manhã e tarde por pelo menos 30 minutos. As receptoras foram avaliadas quanto à sincronia do estro em relação à doadora, bem como a categoria da receptora

(novilha ou vaca). O dispositivo intravaginal foi identificado quanto ao número de utilização do CIDR.

Na central Serandy, no período da seca, a dieta dos animais foi composta por cana-de-açúcar picada fresca, 20 kg/cabeça/dia, farelo de soja (800g/cabeça/dia), Megalac (100g/cabeça/dia) e sal mineral (100 g/cabeça/dia). No período das águas com farelo de soja (100g/cabeça/dia), milho moído (100g/cabeça/dia), Megalac (100g/cabeça/dia) e sal mineral (80g/cabeça/dia).

Já na central Rural Par no período da seca a dieta das receptoras foi composta por cana-de-açúcar triturada *Ad libitum*, suplementada com farelo de soja (800g/animal/dia). Após o mês de setembro, a dieta passou a ser feita fornecendo-se farelo de sorgo (600g/animal/dia), caroço de algodão (800g/animal/dia), núcleo vitamínico mineral (Bovigold®, 30g/animal/dia) e suplemento mineral Tortuga Reprodução de forma *Ad libitum*. No período das águas (dezembro à maio) a dieta foi estritamente a pasto suplementada com mineral. As receptoras também estavam em boas condições de sombreamento e conforto. Nas duas centrais, os animais eram distribuídos em baias respeitando-se uma lotação nunca superior a 1 animal para cada 16 m².

2.3. Preparação da receptora e inovulação do embrião

Por volta do décimo sétimo dia após o início do protocolo de sincronização, as fêmeas foram contidas individualmente em tronco apropriado e posteriormente submetidas à tricotomia entre a primeira e segunda vértebra coccígea (C1 e C2) para aplicação de anestesia epidural baixa com 5 mL de lidocaína 2% (Anestésico L Pearson – Pearson Saúde Animal Ltda) e para exame ultrassonográfico dos ovários, identificando a presença do corpo lúteo, bem como a classificação deste. Posteriormente, realizou-se o esvaziamento do reto e a higienização da região perineal com água, sabão e álcool iodato.

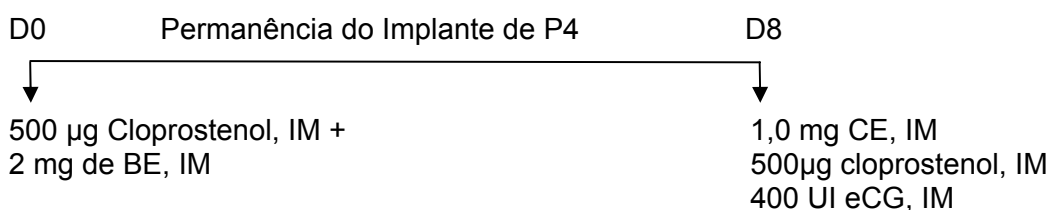
Após a preparação da receptora, procedeu-se a inovulação dos embriões pela técnica não cirúrgica. Para isso o embrião devidamente acondicionado em uma caixa térmica a 37° C, onde é retirado o lacre com a identificação quanto ao número do embrião e qualidade, sendo este afixado numa régua de silicone numerada. A paleta com o embrião foi colocada na

bainha de Cassou e em seguida encaixada no aplicador evitando contaminação.

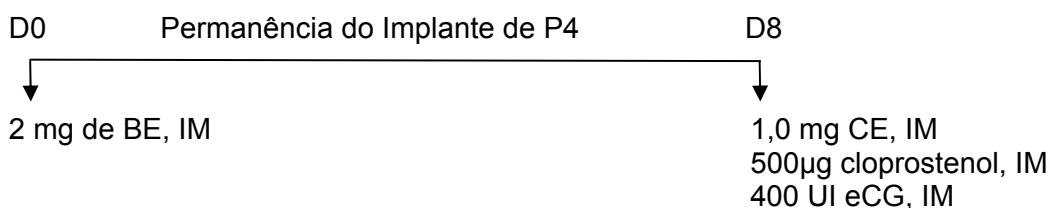
Após essa etapa, a bainha foi colocada na bainha sanitária. Posteriormente introduz o aplicador na vagina da receptora e após passar o primeiro anel da cérvix rompe-se a camisa sanitária, encaminhando a ponta do aplicador até a extremidade do corno ipsilateral ao corpo lúteo, quando então o embrião é inovulado e a receptora é mantida num lote em boas condições de alimentação.

. As receptoras permaneceram sob manejo nutricional semi-intensivo até o diagnóstico de sexagem por volta do 58º dia de gestação e posteriormente manejados em piquetes com pastagem predominante de *Brachiaria Decumbens*.

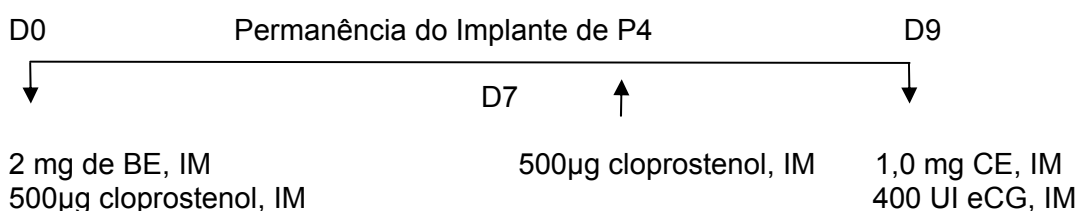
Protocolo 1



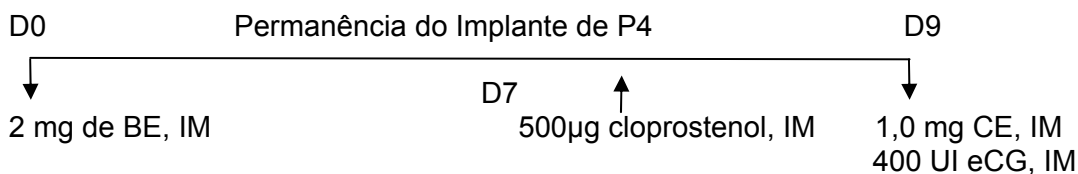
Protocolo 2



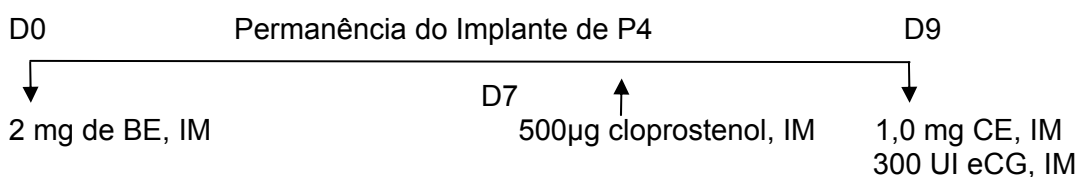
Protocolo 3



Protocolo 4



Protocolo 5



Protocolo 6

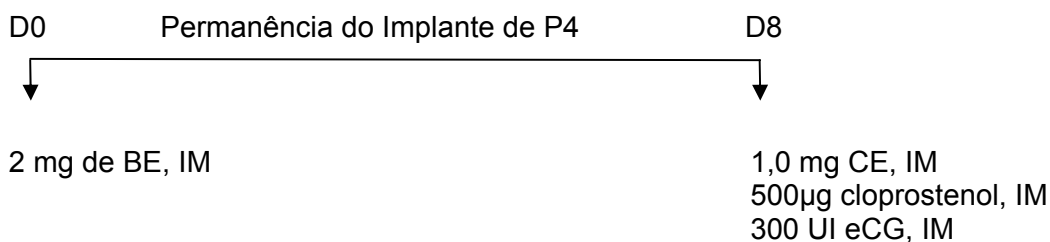


Figura 1: esquemas dos diferentes protocolos de sincronização do estro.

2.4. Classificação embrionária:

Antes da inovulação dos embriões, os mesmos foram avaliados e classificados de acordo com a classificação preconizados pela Sociedade Internacional de Transferência de Embriões – IETS (1998), sendo utilizados somente embriões classificados como embriões I (Excelente) e II (Regular).

EXCELENTE ou BOM – GRAU I – estágio de desenvolvimento que corresponde ao esperado; massa embrionária simétrica e esférica com blastômeros individuais que são uniformes em tamanho, cor e densidade; forma regular, a ZP não deve apresentar superfície côncava ou plana, deve ser lisa e, preferencialmente intacta; menos de 15% de células extrusadas.

REGULAR – GRAU II - estágio de desenvolvimento que corresponde ao esperado; forma regular, ZP intacta ou não, irregularidades moderadas na forma geral da massa embrionária ou no tamanho; pelo menos de 50% das células compõem massa embrionária viável; menos de 15% de células extrusadas.

POBRE – GRAU III - estágio de desenvolvimento não corresponde ao esperado; irregularidades maiores na forma geral da massa embrionária ou no tamanho; menos de 75% das células degeneradas; pelo menos 25% das células compõem massa embrionária viável.

MORTO OU DEGENERADO – GRAU IV - estágio de desenvolvimento que não corresponde ao esperado, embrião em degeneração; massa embrionária de menos de 25% de todo material celular presente no interior da ZP.

No presente estudo foram avaliados os embriões Blastocistos expadidos e Blatocisto de grau I e II.

2.5 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos à análise estatística descritiva (distribuição de freqüência) empregando o programa SAEG (SAEG-UFV, 2007)

Os dados qualitativos foram arranjados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de qui-quadrado a 5 % de probabilidade de erro, para avaliar a taxa de prenhez nos diferentes protocolos e os efeitos do intervalo do ultimo estro à colocação do dispositivo intravaginal de P4, condições uterina e

atividade ovariana na ocasião da colocação do dispositivo intravaginal de P4, número de utilização do CIDR, sincronia do estro da receptora em relação à doadora, a categoria da receptora (novilha ou vaca), período experimental e classificação embrionária.

3. Resultado e discussão

No presente estudo 44 (1,9%) das 2262 das fêmeas bovinas que foram inovuladas perderam o dispositivo intravaginal de progesterona. Os animais só foram inovulados porque apresentaram corpo lúteo na avaliação para a transferência de embrião. Entretanto, esses animais foram excluídos da análise estatística. Outro grupo de 63 (2,7%) das 2369 fêmeas bovinas não recebeu PGF₂α no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona. Portanto, também foi desconsiderado para análise estatística. Resultando num total de 2262 fêmeas inovuladas (Tabela 1).

Os resultados no presente estudo não diferiram quanto às taxas de prenhez obtidas quando empregou-se os diferentes protocolos (p<0,05), a exceção do protocolo 4 que apresentou uma excelente taxa de prenhez (66,7) dentre as inovuladas, embora o número de animais nesse protocolo seja considerado pequeno. Na tabela 1, é apresentada a taxa de prenhez das fêmeas inovuladas e protocoladas onde se encontra uma média de 39,2% e 24,3%, respectivamente.

Tabela 1: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, em relação ao total de fêmeas inovuladas e protocoladas, de acordo com tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Fêmeas inovuladas	Fêmeas protocoladas
1	249/641 (38,8) ^a	249/974 (25,6) ^a
2	102/274 (37,2) ^a	102/457 (22,3) ^a
3	171/483 (35,4) ^a	171/751 (22,8) ^a
4	48/72 (66,7) ^b	48/86 (55,8) ^b
5	203/527 (38,5) ^a	203/856 (23,7) ^a
6	113/265 (42,6) ^a	113/525 (21,5) ^a
Geral	886/2262 (39,2)	886/3649 (24,3)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; P > 0,05).
^{**}n/N (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual na linha.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF₂α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF₂α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF₂α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF₂α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF₂α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF₂α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF₂α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da

retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF₂α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

As fêmeas que receberam o protocolo sem PGF₂α no momento da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona, cujos dispositivos intravaginais permaneceram por 9 dias e com uma aplicação de 400UI de eCG no momento da retirada do protocolo (protocolo 4) apresentaram melhores taxas de prenhez em relação aos demais protocolos estudados ($p < 0,05$), estando em consonância com estudos utilizando receptoras de embrião, que também relataram o efeito luteotrófico da eCG, resultando no aumento da taxa de concepção após utilização em associação ao protocolo de sincronização de receptora de corte (BARUSELLI et al., 2003). Quanto a dosagem, o tratamento com eCG na dose de 400 UI é altamente recomendado quando uma grande proporção de animais se encontram em anestro por aumentar a fertilidade das fêmeas (BARUSELLI et al., 2004). Existem muitos relatos de aumentos na fertilidade após a incorporação da eCG em protocolos para IATF, principalmente em vacas de corte (BARUSELLI et al., 2008). A melhora na taxa de concepção em animais que recebem a eCG na retirada do dispositivo intravaginal de P4, provavelmente, está relacionada ao aumento da taxa de ovulação dos animais em anestro e aos maiores concentração de progesterona circulante no diestro (BARUSELLI et al., 2004), minimizando falhas no reconhecimento materno-fetal da gestação (MANN; HARESIGN, 2001).

Entretanto, Melo e colaboradores (2008) concluíram que a antecipação na administração de PGF₂α (10mg de dinoprost, Lutalise®) dois dias antes da retirada do dispositivo intravaginal (1,9 g de P4 CIDR®, Pfizer) no dia 7 em relação à aplicação no momento da retirada (D9) não influenciou na taxa de concepção em vacas da raça Nelore, submetidas a um programa de IATF. Fato este intrigante, já que o aumento da secreção pulsátil de LH durante o período entre a luteólise induzida pela PGF₂α à remoção do progestágeno, permitindo o crescimento mais uniforme do folículo ovulatório em animais tratados do que fêmeas que apresentam corpo lúteo na fase do diestro.

Os resultados obtidos no presente estudo, nos protocolos 1 vs 3, e 5 vs 6, corroboram com os estudos de Melo e colaboradores (2008) que não verificaram diferença quanto a antecipação em 48 horas da aplicação do

PGF2 α em relação a retirada do dispositivo. Mas não explica o fato do protocolo 4 apresentar melhor resultado de prenhez frente aos demais.

Entretanto, Sá Filho e colaboradores (2005) utilizando novilhas mestiças pra TETF de PIV, obtiveram resultados melhores na taxa de prenhez de receptoras que receberam PGF2 α , 48 horas da retirada do dispositivo intravaginal, quando comparado as receptoras que receberam aplicação de PGF2 α no momento de retirada do dispositivo intravaginal de progesterona. O mesmo foi observado no presente estudo no protocolo 4, mas essa diferença não foi notada nos protocolos 3 e 5.

Os melhores resultados percentuais do protocolo 4 no presente estudo (66,7%) corroboram aos estudo de Peres e colaboradores (2008) que sincronizaram a ovulação de vacas da raça Nelore usando um liberador de progesterona por 9 dias para IATF. As vacas receberam injeção de PGF2 α no dia da retirada do dispositivo intravaginal ou 2 dias antes da remoção. As concentrações de progesterona foram mensuradas no dia de remoção do dispositivo intravaginal para vacas que recebiam PGF2 α mais cedo em comparação ao controle (3,05 vs 4.58 ng/mL), respectivamente. A taxa de prenhez foi maior para vacas que receberam PGF2 α mais cedo no protocolo de sincronização em comparação ao controle (52,0 vs 36,4%, respectivamente).

No presente estudo optou-se por usar o Cipionato de estradiol no momento da retirada do implante, diferindo dos estudos de Sá e colaboradores (2005) que verificaram resultados favoráveis a utilização de BE um dia após a retirada do implante. Entretanto, Penteadó e colaboradores (2005) testando, em 299 fêmeas paridas (60-90 dias) a dosagem de 0,5 ou 1mg de Cipionato de estradiol na retirada do dispositivo intravaginal ou 1mg benzoato de estradiol 24 horas após a retirada, observaram que o uso de 1mg de CE proporcionou melhores índices de concepção na IATF (55%) comparando com 0,5 mg de CE (41%) e 1 mg de BE (38,4%), além de facilitar o manejo.

Essa escolha pelo cipionato de estradiol é ainda respaldada pelos estudos de Martinez e colaboradores (2002) e os de Melo e colaboradores (2008). Apesar do cipionato de estradiol ter sido descrito como menos eficiente na sincronização da emergência folicular por ter uma meia vida e um clearance sanguíneo mais longo comparado com outros ésteres de estradiol (MARTINEZ, 2004), essa diferença não foi observado por Melo e colaboradores (2008) ao

comparar o cipionato de estradiol (1mg) com o benzoato de estradiol (2mg) no momento da colocação do implante, onde a taxa de concepção foi semelhante em vacas da raça Nelore para IATF. Como o Cipionato possui uma meia vida e um clearance sanguíneo mais longo, foi escolhido para ser aplicado no momento da retirada, por diminuir uma vez o manejo dos animais no curral comparando ao benzoato de estradiol, que é mais indicado se aplicado 24 horas após a reitrada do dispositivo.

Diferente aos dados obtidos por Carvalho e colaboradores (2008), os do presente estudo demonstraram que a aplicação de prostaglandina na colocação do dispositivo intravaginal de P4, não influencia na taxa de prenhez, em conformidade com os estudos de Marques e demais colaboradores (2005).

Outro trabalho conduzido por Martins e colaboradores (2005b) estudando a dinâmica folicular após o tratamento com o 2mg de benzoato de estradiol (estrogen[®], Farmavet) ou 0,5 mg de Cipionato de Estradiol (ECP[®], Pfizer) administrados como indutores de ovulação na retirada do dispositivo de P4 ou 24 horas após sua retirada, demonstrando que o momento da ovulação nos animais que receberam CE no momento da retirada do dispositivo intravaginal de P4 ou BE 24 horas após a retirada do dispositivo, não houve interação entre o tratamento e momento da administração, sendo observado efeito somente da aplicação de CE e BE, onde CE resultou em melhores valores percentuais ovulação em relação ao BE.

Alguns pesquisadores defendem o uso de aplicação de PGF₂ α e ou eCG no dia 4 do protocolo, como Bó e colaboradores (2004) que realizaram vários experimentos comparando a aplicação de PGF₂ α no dia 4 (dia da emergência da nova onda de crescimento folicular) em relação ao dia 8 (dia da retirada do implante) onde o primeiro aumentou o número de receptoras selecionadas pra TE e a concentração de P4 no momento da avaliação das receptoras aptas para TE. O protocolo com PGF₂ α no dia 4 aumentou a proporção de receptoras selecionadas para TE (70,5%) e a taxa de concepção (41,1%) comparada ao protocolo com PGF no dia 8 (52,7% e 21,5%, respectivamente).

Ferreira e colaboradores (2006) compararam 3 diferentes tipos de protocolos em novilhas *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus* inovuladas com embriões de PIV. Em todos os grupos, no dia 0, as fêmeas receberam um dispositivo auricular (norgestomet) e BE. No grupo 1, as receptoras receberam

eCG mais PGF2 α no dia 5 (protocolo tradicional) e BE um dia após a retirada (D9), no grupo 2, o eCG e a PGF2 α foram aplicados no momento da retirada (D8) e BE um dia após a retirada do dispositivo (D9) e o grupo 3, diferiu do protocolo 2 pela aplicação de BE e eCG que não era realizada no dia 9, mas no dia 8. O grupo 3, além de eliminar a mão de obra de mais duas passagens dos animais pelo tronco, apresentou maiores valores percentuais que os valores do grupo 1 e 2, tanto na taxa de aproveitamento de receptoras, como também, na taxa de prenhez. Adicionalmente os autores afirmam que a mudança para 8 dias só produz efeito no uso de Norgestomet e com esse dispositivo, a PGF2 α na colocação não apresentou diferença entre os diversos protocolos estudados.

Os resultados verificados por Ferreira e colaboradores (2006) diferem dos valores observados no presente estudo em relação a taxa de prenhez por receptoras inovuladas e prenhez por fêmeas protocoladas respectivamente. Ressalta-se que esse resultado é decorrente de vários tipos de protocolos analisados, com diferença no tempo de permanência de dispositivo intravaginal e aplicações de outros hormônios.

Em relação à aplicação de PGF2 α associados a protocolos intravaginais, Sá Filho e colaboradores (2005) estudando a aplicação de PGF2 α no início com diferentes fontes de progesterona intravaginal (CIDR) ou dispositivo auricular (Norgestomet) verificaram que a PGF2 α no início do tratamento sincronizou melhor a ovulação, e que o dispositivo auricular resultou em melhores taxas de crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante e taxa de ovulação em comparação ao dispositivo intravaginal (CIDR vs CRESTAR e com ou sem PGF2 α). No entanto, os autores não estudaram o efeito desses fatores sobre a taxa de prenhez.

Além da aplicação do PGF2 α no momento da colocação do dispositivo intravaginal procurou-se analisar também diferentes dosagens de eCG, tal como Rezende e colaboradores (2005) que avaliaram a aplicação de PGF2 α no início de protocolo de sincronização e diferentes doses de eCG em novilhas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* para inovulação de embrião de PIV. Os autores verificaram que os animais que receberam PGF2 α no início do protocolo não diferiram daquelas que não receberam em relação à taxa de aproveitamento, concepção, prenhez (Protocolo com ou sem PGF2 α no D0, e

300 ou 400 UI de eCG no D8) como verificado no presente estudo. Entretanto, Ayres (2009) verificou um efeito positivo na aplicação do PGF2 α na colocação.

Neste estudo, nos vários protocolos que utiliza a PGF2 α não se observou diferença na taxa de prenhez. Corroborando com Reis (2004) e também ao estudo realizado por Pfeifer e colaboradores (2009) que trabalharam com novilhas pre-puberes e fêmeas adultas.

Baixas concentrações de progesterona, e conseqüentemente pulso e frequência de LH alto, durante o crescimento do folículo ovulatório são associadas com o decréscimo de fertilidade, atribuído a maturação prematura de oócito (MIHM et al. 1999). No entanto, baixas concentrações de progesterona promovem o crescimento do folículo dominante, e também podem aumentar a função do CL e a fertilidade, enquanto a competência do oócito ovulatório é obtida (PERRY et al. 2007).

Nos estudos de Mariani (2009) que inovularam embriões de PIV em fêmeas mestiças, as receptoras foram submetidas a dois protocolos. As fêmeas do protocolo 1 receberam 150 mg de cloprostenol. As fêmeas do protocolo 2, receberam o dispositivo auricular (norgestomet) e 2,0 mg de benzoato de estradiol. No oitavo dia retirou o dispositivo intravaginal e um dia após recebeu 1,0 mg de BE. Das receptoras avaliadas, 46 apresentaram corpo lúteo pequeno, 80 médios, 114 tipo grandes e 20 inclusos, resultando em 16 (34,78%), 29 (36,25%), 41(35,96%) e 7 (35,00%) fêmeas gestantes, respectivamente. Esses resultados sugerem não haver relação entre morfologia do corpo lúteo de ovários de receptoras bovinas de embriões e os índices de prenhez.

Na tabela 2, verifica-se que dentro da classe de animais inovulados com embriões em estágio de blastocisto expandido, o protocolo sem PGF2 α no momento da colocação do dispositivo intravaginal que permaneceu por 9 dias e 400 UI de eCG no dia da retirada (protocolo 4) apresentou os maiores valores percentuais de taxa de prenhez, não sendo observado diferença entre os valores percentuais dos demais protocolos ($p>0,05$). Ressalta-se o baixo número de receptoras para o protocolo 4.

Tabela 2: Taxa de prenhez de receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com classificação embrionária e diferentes protocolos de sincronização de estro.

Classificação embrionária		
Protocolo	Blastocisto expandido	Blastocisto
1	214/526 (40,7) ^{aA}	21/58 (36,2) ^{aA}
2	91/223 (40,8) ^{aA}	6/31 (19,4) ^{aB}
3	143/383 (37,3) ^{aA}	14/37 (37,8) ^{acA}
4	42/63 (66,7) ^{ba}	6/8 (75,0) ^{bcA}
5	163/391 (41,7) ^{aA}	18/73 (24,7) ^{aB}
6	85/192 (44,3) ^{aA}	13/32 (40,6) ^{aA}
Geral	738/1778 (41,5) ^A	78/239 (32,6) ^B

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

n/N (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Na classe de animais inovulado com embriões em estágio de blastocisto, o protocolo 4 apresentou valores percentuais diferentes dos valores dos protocolos 1, 2, 5 e 6 ($p < 0,05$), sendo semelhante aos valores percentuais do protocolo 3 ($p > 0,05$). No entanto, quando não se considera as receptoras do protocolo 4, por apresentar baixo número de fêmeas experimentais, não se verificou diferença entre os diferentes protocolos de sincronização, indicando que o estágio do desenvolvimento embrionário no presente estudo, não exerce influência sobre a taxa prenhez ($p > 0,05$).

Avaliando-se as classificações embrionárias incluindo todos os protocolos, a classificação embrionária blastocisto expandido apresentou melhores valores percentuais ($p < 0,05$) que os valores da classe de desenvolvimento embrionário blastocisto (41,5 vs 32,6 respectivamente).

Relatando a diferença entre os embriões produzidos *in vivo* e *in vitro*, Siqueira e colaboradores (2009) utilizaram vacas não lactantes e novilhas protocoladas com 2mg de BE mais CIDR no dia 0; 400 UI de eCG no dia 5; retirada do dispositivo intravaginal e aplicação de PGF2α no dia 8; e 1mg de BE no dia 9. Ao fim do tratamento 76,1% das receptoras estavam aptas para a TE. Essas foram inovuladas com embriões de PIV ou TE convencional. A taxa

de prenhez foi maior para fêmeas inovuladas com embriões produzidos *in vivo* do que nos produzidos *in vitro*. Entretanto, o estágio de desenvolvimento embrionário influenciou a possibilidade de gestação. Os autores concluíram que as avaliações do corpo lúteo são insuficientes para prever a taxa de gestação e que o estágio de desenvolvimento embrionário, no entanto, é um fator que afeta mais a taxa de prenhez nas receptoras.

Já Veronesi e colaboradores (2002) observaram alta correlação entre o tamanho do CL (não detectável, diâmetro menor que 20mm e maior que 20 mm) e a concentração de P4 (< 1 ng/mL, de 1 a 4 ng/ mL e >4ng/ mL) indicando que a mensuração ultrassonográfica é o meio mais confiável para avaliação do diâmetro da massa luteal. O que não foi observado nos resultados do presente estudo.

No entanto, no estudo realizado por Siqueira e colaboradores (2009) empregando uma análise de regressão logística, verificou-se que apenas uma variável tem afetado a taxa de prenhez (embrião fresco ou congelado), não sendo verificado efeito das características de concentração de progesterona, ecotextura do CL, área do CL, categoria do animal, qualidade do embrião e estágio de desenvolvimento embrionário. Baseado nessa relação, a probabilidade da taxa de prenhez aumenta nas receptoras transferidas com embriões *in vivo* comparados com os produzidos *in vitro* (por um fator de 3,18 e 95% no intervalo de confiança de 1,7 e 5,94; $P < 0,001$).

Entretanto, no presente estudo, verificou-se o efeito do estágio de desenvolvimento embrionário, com diferença entre os protocolos 2 e 5, onde fêmeas que foram inovuladas com blastocistos expandidos apresentaram valores percentuais maiores do que aquelas receptoras que foram inovuladas com embriões em estágio de desenvolvimento de blastocistos ($p < 0,05$). Estas observações corroboram o estudo de Block e colaboradores (2009) que sincronizaram receptoras com o protocolo Ovsynch. No dia 0, as fêmeas receberam 100 mcg de GnRH, no dia 7 receberam 25 mg de PGF2 α . No dia 9, aplicou a segunda dose de GNRH. No dia 16, as receptoras que apresentaram corpo lúteo foram inovuladas. Os autores constataram que a taxa de prenhez de receptoras que receberam embriões no estágio de blastocisto expandido foi maior que receptoras que receberam embriões no estágio de blastocisto e mórula ($p < 0,05$).

Os valores percentuais da taxa de prenhez em receptoras de acordo com o número de utilização do dispositivo intravaginal e tipo de protocolo de sincronização do estro estão sumariados na tabela 3.

Tabela 3: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com o número de utilização do dispositivo intravaginal e tipo de protocolo de sincronização do estro.

Protocolo	Número de utilização do dispositivo intravaginal				Geral
	1	2	3	4	
1	68/159 (42,8) ^{aA}	24/62 (38,7) ^{aA}	4/16 (25,0) ^{aA}	1/1 (100)*	97 (40,8) ^A
2	-	9/33 (27,3) ^a	-	-	9 (27,3) ^A
3	51/146 (34,9) ^{aA}	14/50 (28,0) ^{aA}	65/176 (36,9) ^{aA}	10/24 (41,7) ^{aA}	140 (35,3) ^A
4	6/8 (75,0)*	24/36 (66,7) ^{bA}	15/23 (65,2) ^{bcA}	3/5 (60,0)*	48 (66,7) ^B
5	34/93 (66,6) ^{aA}	63/170 (37,1) ^{aA}	65/162 (40,1) ^{aA}	22/64 (34,4) ^{aA}	184 (37,6) ^A
6	13/34 (38,2) ^{aA}	20/53 (37,7) ^{aA}	39/81(48,2) ^{acA}	41/97 (42,3) ^{aA}	113 (42,6) ^A
Geral	172/440 (39,1) ^A	154/404 (38,1) ^A	188/458 (41,0) ^A	77/191(40,3) ^A	591/1497(39,5)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais quando utilizou dispositivo intravaginal de primeiro uso (novo) não apresentaram diferença dos valores percentuais da taxa de prenhez nos diferentes protocolos empregados ($p > 0,05$). Para os protocolos 2 e 4 houve baixo número de fêmeas e não foram analisadas.

Com o uso do protocolo 4 e empregando dispositivo de segundo uso (classe 2) observou-se os melhores valores percentuais de taxa de prenhez do que os demais protocolos ($P < 0,05$). Já com o uso do protocolo 6 (utilizando dispositivo intravaginal de terceiro uso – classe 3) observou-se valores percentuais semelhantes ao valores do protocolo 4 ($p > 0,05$).

Provavelmente, a aplicação do PGF2α dois dias antes da retirada do dispositivo tende a aumentar a taxa de prenhez. Esses resultados corroboram com Sá Filho e colaboradores (2005) onde no seu grupo 1 (G-I) as novilhas receberam BE mais dispositivo intravaginal novo (CIDR) . Aplicação de PGF2α no sétimo dia (D7) e retirada no dispositivo intravaginal novo dia (D9). No

grupo 2 (G-II), protocolo similar ao grupo 1, porém o com dispositivo intravaginal previamente utilizado por 9 dias (CIDR 2° uso). No grupo 3 (G-III), as novilhas receberam BE mais dispositivo intravaginal novo (CIDR), aplicação de PGF2 α e retirada no dispositivo intravaginal novo dia (D9). No grupo 4 (G-IV), protocolo similar ao grupo 3, porém o com dispositivo intravaginal previamente utilizado (CIDR 2° uso), todas as novilhas com CL no dia da TE receberam embriões PIV frescos (Graus 1 e 2). Receptoras do G-I foram melhores que G-II que foi melhor que G-IV que foi melhor que G-III, quanto às taxas de concepção e prenhez.

Entretanto, no presente estudo, analisando somente a reutilização do dispositivo intravaginal, sem considerar os diferentes protocolos de sincronização, não observou efeito da reutilização do dispositivo intravaginal sobre a taxa de prenhez ($p>0,05$).

Esses resultados do presente estudo, mesmo sendo de TETF de PIV estão em de acordo com outras pesquisas realizadas anteriormente, mesmo para IATF (COLAZO et al, 2004) que não verificou nenhuma diferença na taxa de concepção reutilizando dispositivos por uma vez.

Colazo e colaboradores. (2004) verificaram que a taxa de prenhez se mostrou comprometida quando foram utilizados dispositivos usados por duas vezes, o que não está em conformidade com os resultados do presente estudo.

Em alguns casos, o fato do dispositivo intravaginal ser reutilizado pode apresentar um resultado melhor, ainda que não tenha sido observado no presente estudo. Martins e colaboradores (2005a) verificaram que DIB em 3° uso associado a P4, retardou a emergência da onda, sendo essa mais sincronizada que nos outros grupos. Segundo os autores, provavelmente, o dispositivo intravaginal de até o quarto uso possui ainda uma quantidade de P4 suficiente pra manter a concentração sérica de P4 mínima para sincronização da ovulação. Corroborando, Maio e colaboradores (2009) compararam a concentração de progesterona mensurada a cada 24 horas de dispositivos de 1°, 2° e 3° uso (Sincrogest®) e verificaram que o padrão de liberação de progesterona em todos os dispositivos se manteve em torno de 2ng/mL até 196 horas de uso. Indicando que o número de uso não influenciou consideravelmente a concentração de P4.

Os valores percentuais da taxa de prenhez em receptoras de acordo com a sincronia das receptoras e doadoras, categorias de fêmeas e tipos de protocolo de sincronização de estro estão sumariados na tabela 4.

Dentro da classe em que as fêmeas apresentaram estro sem serem observados ou não apresentou estro e foi inovulado (s/c), analisando somente as novilhas, o protocolo 4 foi o que apresentou melhores valores percentuais de taxa de prenhez ($P < 0,05$).

Quando avaliado as classes de sincronização, analisando somente as novilhas, o protocolo 5 onde as receptoras que não apresentaram cio (s/c) obtiveram resultados piores que o as receptoras que apresentaram cio 9 dias antes da transferência do embrião (-1) ($p < 0,05$).

Ao compararmos as classes de sincronização levando em consideração todos aos protocolos, nota-se que dentro da categoria de novilhas, as classes de sincronização de nove dias e oito dias de cio antes da transferência do embrião (-1 e 0, respectivamente) apresentaram melhores taxas de prenhez que a classe de sincronização de 10 dias (-2) ($p < 0,05$). Não houve diferença ao compararmos novilhas e vacas dentro da mesma classe de sincronização ($p > 0.05$).

Para que ocorra uma boa implantação do embrião no útero da receptora, é necessário que esta esteja numa fase do ciclo estral que a doadora estava quando o embrião foi coletado. Quanto mais sincronizadas, melhores serão as taxas de concepção. Há uma margem aceitável de diferença entre o ciclo da doadora com o da receptora, esta margem é de 24 horas, porém, o melhor seria menor de 12 horas (VIEL JUNIOR, 2007).

Tabela 4: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com a sincronia das receptoras e doadoras, categorias de fêmeas e tipos de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Sincronia das receptoras/doadoras												Total	
	-2		-1		0		+1		+2		s/c			
	Novilha	Vaca	Novilha	Vaca	Novilha	Vaca	Novilha	Vaca	Novilha	Vaca	Novilha	Vaca	Novilha	Vaca
1	1/2 (50,0)*	-*	41/100 (41,0) ^{abA}	6/17 (35,3) ^{abA}	114/289 (39,4) ^{abA}	8/19 (42,1) ^{abA}	31/81 (38,3) ^{abA}	3/4 (75,0)*	8/22 (36,4) ^A	0/1 (0)*	35/101 (34,6) ^{abA}	2/5 (40,0)*	230/595 (38,7)	19/46 (41,3)
2	0/2 (0)*	-*	36/83 (43,4) ^{acA}	4/11 (36,4) ^a	44/122 (36,1) ^{abA}	5/8 (62,5)*	2/6 (33,3)*	-*	0/1 (0)*	-*	11/39 (28,2) ^{abA}	0/2 (0)*	93/253 (36,8)	9/21 (42,9)
3	2/19 (10,5) ^A	-*	25/88 (28,4) ^{adeA}	3/8 (37,5)*	90/231 (39,0) ^{abA}	8/20 (40,0) ^a	0/2 (0)*	-*	1/1 (100)*	-*	41/113 (36,3) ^{abA}	1/1 (100)*	159/454 (35,0)	12/29 (41,4)
4	-*	-*	25/39 (64,1) ^{bdfgA}	1/1 (100)*	13/20 (65,0) ^{bcA}	-*	-*	-*	-*	-*	9/12 (75,0) ^{bcA}	-*	47/71 (66,2)	1/1 (100)
5	3/9 (33,3)*	1/2 (50,0)*	59/133 (44,4) ^{acfhA}	3/11 (27,3) ^{abA}	85/212 (40,1) ^{adAC}	3/13 (23,1) ^{abA}	10/24 (41,7) ^{adAC}	1/4 (25,0)*	0/1 (0)*	-*	37/116 (31,9) ^{abBC}	1/2 (50)*	194/495 (39,2)	9/32 (28,1)
6	2/5 (40,0)*	-	24/50 (48,0) ^{acfgA}	2/3 (66,7)*	57/131 (43,5) ^{acA}	3/9 (33,3)*	1/8 (12,5)*	-*	0/3 (0)*	-*	23/54 (42,6) ^{abA}	1/2 (50)*	107/251 (42,6)	6/14 (42,9)
Geral	8/37 (21,6) ^A	1/2(50,0)*	210/493 (42,6) ^{BCA}	19/51 (37,3) ^{AA}	403/1005 (40,1) ^{BCEA}	27/69 (39,1) ^{AA}	44/121 (36,4) ^{ACEA}	4/8(50,0) ^{AA}	9/28 (32,1) ^{ACE}	0/1 (0)*	156/435 (35,9) ^{ADEA}	5/12 (41,7) ^{AA}	830/2119 (39,2)	56/143 (39,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha e categoria não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{AB} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha (em negrito e sublinhada) comparação entre categorias (novilha e vaca) da mesma classe (-2, -1, 0, +1, +2, sc) não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{n/N} (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no mesmo protocolo.

Sincronia receptora /doadora= - 2; Receptoras que apresentaram estro 10 dias antes da inovulação; Sincronia receptora /doadora= -1 Receptoras que apresentaram estro 9 dias antes da inovulação; Sincronia receptora /doadora= 0 Receptoras que apresentaram estro 8 dias antes da inovulação; Sincronia receptora /doadora= +1 Receptoras que apresentaram estro 7 dias antes da inovulação; Sincronia receptora /doadora= +2 Receptoras que apresentam estro 6 dias antes da inovulação; Sincronia receptora /doadora= s/c Receptoras que não apresentaram cio, ou apresentaram, mas não foram observados e foram submetidas a inovulação.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias;

Protocolo 2: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias;

Protocolo 4: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais de taxa de gestação da classe de sincronia igual a -1 e 0, diferiram da classe de sincronia igual a -2 ($p < 0,05$). Corroborando ao estudo realizado por Jones e colaboradores (2008) onde os autores verificaram que a taxa de prenhez varia com a sincronia da doadora e da receptora. Embora a taxa de gestação seja maior em receptoras cujos estros coincidem com os estros das doadoras, aparentemente não há diminuição na taxa de prenhez quando não excede 24 horas de assincronia. No entanto, Niewman e colaboradores (1985) mostraram uma diminuição na taxa de prenhez quando receptoras apresentaram estro 12 horas após a doadora, provavelmente, devido à concentração de progesterona. Os autores relataram que a concentração mínima de P4 para manter a gestação está em torno de 2 a 5 ng/mL. Entretanto, Spell e colaboradores (2001) não observaram diferença na taxa de prenhez entre os grupos de fêmeas que apresentaram concentração inferior a 0,58 ou maiores que 16ng/ mL de P4 e foram inovuladas entre 6,5 e 8,5 dias após o estro.

Corroborando também com o estudo de Mariani (2009) que selecionou receptoras mestiças para inovulação com embrião de PIV. As receptoras foram divididas em dois grupos. No grupo 1, as fêmeas receberam 150 µg de cloprostenol. O grupo 2, as fêmeas receberam o dispositivo auricular norgestomet e 2,0 mg de benzoato de estradiol. No oitavo dia retiraram o dispositivo e um dia após receberam 1,0 mg de BE. Quarenta receptoras tiveram cio observado um dia antes da fertilização *in vitro* (D-1), 137 no dia da PIV (D0) e 83 receptoras um dia após a PIV (D+1), resultando em uma taxa de prenhez de 38,8%, sendo que para cada classe de sincronia receptora / doadora, a taxa de prenhez resultante foi de 42,5 % para D - 1; 41,6% para D0 e 30,1% para D +1. Esses resultados sugerem não haver relação entre o dia do estro da receptora inovulada e o dia da fertilização *in vitro* (sincronia) com as taxas de prenhez quando embriões forem inovulados nos dias mencionados de sincronia.

Peixoto e colaboradores (2007) avaliaram os fatores que afetam a taxa de gestação de 5627 embriões zebuínos inovulados em fêmeas mestiças. Após avaliar o estágio, a qualidade e a viabilidade os embriões foram imediatamente transferidos para as receptoras. Na classe de sincronia receptora / doadora (estro da receptora ocorrendo 2 dias antes do cio da doadora, 1 dia antes do cio da doadora, no dia do cio da doadora, ou dois dias após o cio da doadora), as receptoras que

apresentaram o cio 1 dias antes da doadora apresentaram melhores taxa de prenhez.

Os valores percentuais da taxa de prenhez de acordo com período experimental e tipo de protocolos de sincronização de estro estão sumariados na tabela 5.

Os valores percentuais das classes experimentais 1 e 2 não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$). Já na terceira classe experimental, o protocolo 4 apresentou melhores valores percentuais de prenhez do que os valores dos protocolos 5 e 6 ($p < 0,05$).

Quando avaliado somente os períodos experimentais, a terceira classe resultou em melhores taxas de prenhez do que a classe 2 ($p < 0,05$), sendo que essa diferença se deve aos valores percentuais obtidos no protocolo 4, pois os demais protocolos não diferiram entre si ($P > 0,05$). A análise do período experimental no presente estudo, apenas é indicativa de possíveis efeitos dos períodos do ano em que são realizadas as inovulações, em função de alguns protocolos serem realizados em períodos do ano diferentes.

No entanto, Peixoto e colaboradores (2007) verificaram que entre diversos fatores que afetam a taxa de gestação de em receptoras mestiças, a estação do ano em que o embrião era inovulado (verão, outono, inverno e primavera), o outono apresentou a melhor taxa de prenhez. Esses resultados divergem do presente estudo, contudo, observa-se que o protocolo de sincronização de estro utilizado pelos autores foi apenas aplicações de $PGF_2\alpha$ e os embriões inovulados foram produzidos in vivo e não por PIV, como no presente estudo.

Tabela 5: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com período experimental e tipo de protocolos de sincronização de estro.

Protocolo	Período experimental		
	1	2	3
1	111/293 (37,9) ^{aA}	138/348 (39,7) ^{aA}	-
2	93/240 (38,8) ^{aA}	9/34 (26,5) ^{aA}	-
3	-	171/483 (35,4) ^{aA}	-
4	-	-	48/72 (66,7) ^{aB}
5	-	-	203/527 (38,5) ^{bA}
6	-	-	113/265 (42,6) ^{bA}
Geral	204/533 (38,3) ^A	318/865 (36,8) ^{AB}	364/864 (42,1) ^{AC}

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

n (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Todas letras em sublinhadas foram comparadas com o protocolo 3 e apresentam em letras maiúsculas a comparação entre as colunas.

Período = 1: 18/07/08 a 02/01/09; Período = 2 : 15/01/09 a 20/03/09; Período =3 : 26/03/09 a 10/07/09

n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 0,5 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 0,5 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 0,5 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 0,5 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 0,5 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias. **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 0,5 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Os valores percentuais da taxa de prenhez de acordo com a classificação ovariana e o tipo de protocolo de sincronização de estro estão sumariados na tabela 6.

Na classificação ovariana antes da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona, a classe 0 (ovário não foi analisado) os valores percentuais do protocolo 4 foram melhores que os valores dos demais protocolos ($p < 0,05$) com exceção ao protocolo 6 que foi igual ($p > 0,05$), não sendo observado diferença entre os demais protocolos empregados ($p > 0,05$).

Na classificação ovariana igual 2, os valores dos percentuais do protocolo 5 foram melhores que os valores do protocolo 3 ($p < 0,05$). Nos demais protocolos não foi possível a análise dos dados em função do número de animais reduzido.

Na classificação ovariana igual 3, os valores percentuais do protocolo 4 foram melhores que os valores dos demais protocolos ($p < 0,05$), não observando diferença entre os demais protocolos ($P > 0,05$).

Tabela 6: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com a classificação ovariana e o tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Classificação ovariana					Geral
	0	1	2	3	4	
1	17/49 (34,7) ^{aA}	1/1 (100)*	4/9 (44,4)*	176/445 (39,6) ^{aA}	51/137 (37,2) ^{aA}	249/641 (38,9)
2	4/11 (36,4)*	2/2 (100)*	1/7 (14,3)*	80/215 (37,2) ^{aA}	15/39 (38,5) ^{aA}	102/274 (37,2)
3	19/63 (30,2) ^{aA}	-	2/13 (15,4) ^{aA}	120/315 (38,1) ^{aA}	30/92 (32,6) ^{aA}	171/483 (35,4)
4	20/35 (57,1) ^{bcA}	-	-	25/34 (73,5) ^{ba}	3/3 (100)*	48/72 (66,7)
5	44/124 (35,5) ^{adA}	-	8/15 (53,3) ^{ba}	128/316 (40,5) ^{aA}	23/72 (31,9) ^{aA}	203/527 (38,5)
6	27/61 (44,3) ^{acA}	-	0/3 (0)*	73/174 (41,9) ^{aA}	13/27 (48,2) ^{aA}	113/265 (42,6)
Geral	131/343 (38,2) ^A	3/3 (100)*	15/47 (31,9) ^A	602/1499 (40,2) ^A	135/370 (36,5) ^A	886/2262 (39,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

*n/N (%) = número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual na linha.

Classificação ovariana = 0: ovário não foi avaliado; Classificação ovariana = 1 ovários classificados como pequenos; Classificação ovariana = 2 ovário onde não foi observado nada digno de nota ;

Classificação ovariana = 3 Ovários com atividade (folículos); Classificação ovariana = 4 presença de corpo lúteo

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias;

Protocolo 2: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo**

4: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Na classificação ovariana igual 4, não houve diferença entre os valores percentuais de taxa de prenhez nos protocolos ($p>0,05$). O protocolo 4 não foi avaliado por possuir baixo número de receptoras.

Quando se avaliou as classes de classificação ovariana, independentes dos diferentes protocolos empregados, não se verificou diferença entre as classes de classificação ovariana.

No presente estudo, a utilização 300 ou 400 UI de eCG e na presença ou ausência de corpo lúteo (CL) antes da colocação do dispositivo intravaginal não interferiu na taxa de prenhez para TETF de PIV. Porém isso não foi observado por Sá Filho e colaboradores (2010) em um programa de IATF, onde os autores utilizaram novilhas apresentando ou não CL, e receberam um dispositivo intravaginal de 3mg de norgestomet, mais 2mg de benzoato de estradiol. No dia 8, o dispositivo intravaginal era removido e 150 mg de d-cloprostenol foi administrado e as novilhas foram divididas em dois grupos: GI com 0 UI (87) ou GII 400 UI de eCG ($n=90$). Todas as novilhas receberam 1mg de BE no dia 9. Todas as fêmeas foram submetidas à inseminação em tempo fixo (FTAI) 30- 34 horas depois da aplicação de BE. Os autores verificaram que as novilhas sem CL no dia da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona tem menor taxa de crescimento do folículo dominante no momento da remoção do dispositivo intravaginal até a IATF (dias 8-10), menor diâmetro de CL após IATF e reduzida taxa de prenhez por IA.

Segundo Rathbone e colaboradores (2001) novilhas sem CL no dia 0 apresentam maior diâmetro do folículo dominante na remoção do dispositivo intravaginal e a taxa de crescimento do folículo dominante menor no momento de remoção do dispositivo intravaginal até a IATF, resultando em um CL menor cinco dias após IATF quando comparado a novilhas com CL. Provavelmente, nas novilhas sem CL no dia 0 (isto é, novilha durante a puberdade em uma fase específica do ciclo estral sem CL ou novilhas pre-pubescentes), ocasiona em baixa de produção de P4 endógeno, um controle da frequência do pulso de LH.

Deste modo, o uso de protocolo de sincronização para TETF, torna-se uma alternativa satisfatória, por simplificar o manejo com as receptoras, sem a necessidade de detecção de estro e melhor taxa de aproveitamento das receptoras.

Avaliando a eficiência dos protocolos de acordo com a classificação uterina antes da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona (tabela 7), na

avaliação uterina classificação 0, os valores percentuais de prenhez nos protocolos foram semelhantes entre os protocolos ($p>0,05$), exceto so protocolos 3 e 4 que diferiram ($P<0,05$).

Na classificação uterina 3, os valores percentuais de prenhez no protocolo 4 foram melhores aos demais valores dos protocolos utilizados ($P< 0,05$).

Não houve diferença entre os valores percentuais de prenhez nos protocolos de sincronização de estro em receptoras que apresentavam útero pouco turgido (Classe 4), embora o número de fêmeas neste protocolo 4 foi baixa.

Tabela 7: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com a classificação uterina e o tipo de protocolo de sincronização de estro.

Protocolo	Classificação uterina					Geral
	0	2	3	4	5	
1	25/57 (43,9) ^{aA}	3/9 (33,3)*	66/188 (35,1) ^{aA}	19/53 (35,9) ^{aA}	136/334 (40,7) ^{aA}	249/641 (38,9)
2	5/13 (38,5) ^{aA}	1/8 (12,5)*	33/95 (34,7) ^{aA}	8/17 (47,1) ^{aA}	55/141 (39,0) ^{aA}	102/274 (37,2)
3	19/63 (30,2) ^{abA}	3/7 (42,9)*	56/164 (34,2) ^{aA}	13/48 (27,1) ^{aA}	80/201 (39,8) ^{aA}	171/483 (35,4)
4	20/35 (57,1) ^{acA}	-	15/19 (78,9) ^{ba}	2/2 (100)*	11/16 (68,7) ^{ba}	48/72 (66,7)
5	46/133 (34,6) ^{abA}	1/7 (14,3)*	51/126 (40,5) ^{aA}	15/37 (40,5) ^{aA}	90/224 (40,2) ^{aA}	203/527 (38,5)
6	29/68 (42,7) ^{aA}	-	13/30 (43,3) ^{aA}	8/18 (44,4) ^{aA}	63/149 (42,3) ^{aA}	113/265 (42,6)
Geral	144/369 (39,0) ^A	8/31 (25,8) ^A	234/622 (37,6) ^A	65/175 (37,1) ^A	435/1065 (40,8) ^A	886/2262 (39,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Classificação uterina = **0**: animais com o útero não avaliado; Classificação uterina = **2** útero pouco flácido ; Classificação uterina = **3** útero normal; Classificação uterina = **4** útero pouco túrgido; Classificação uterina = **5** útero túrgido.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias;

Protocolo 2: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo**

4: Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:**

Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo , 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Na classificação uterina igual a 5, o protocolo 4 apresentou a melhor taxa de prenhez ($P < 0,05$). Os demais protocolos foram semelhantes entre si ($P > 0,05$).

As outras classes de classificação uterina, não possuíam um número de animais suficiente para análise (classe 2) ou não houve diferença entre as classes de classificação uterina (classe 4) ($p > 0,05$) ou não foi replicado nenhum animal na classe (classe 1), corroborando aos estudos de Leal e colaboradores (2005) que ao analisar em 60 novilhas receptoras mestiças observaram que os úteros em grau intermediário (classificação 3) apresentaram melhores resultados de prenhez quando comparados com as receptoras com útero flácido na ocasião da inovulação. Adicionalmente, os autores não verificaram diferença nas concentrações de progesterona e estradiol entre as receptoras gestante ou não gestante.

No presente estudo, o número de receptoras com o útero flácido foi reduzido, fato esperado, por se tratar de uma característica negativa e inadequada para entrar no programa de inovulação segundo os critérios adotados em programa de transferência de embriões.

Neste estudo, outra característica estudada foi a classe do intervalo do último estro a colocação do dispositivo intravaginal (CLAPROT) e sua relação com os diferentes protocolos (tabela 8 e 9). Dentro dos protocolos e classes analisadas, somente nas classes 0 e 1 foi observado diferença, onde o protocolo 4 resultou em melhores taxas de prenhez ($P < 0,05$), sendo semelhante entre os demais protocolos e classes avaliados ($P > 0,05$).

Nos animais diagnosticados como estando em anestro, os protocolos que utilizaram 300UI de eCG não diferiram dos valores percentuais de protocolos que utilizavam 400 UI de eCG, embora a concentração de 400 UI seja recomendada por Baruselli e colaboradores (2004). Para fêmeas em anestro há muitos estudos indicando o aumento na fertilidade após a incorporação da eCG em protocolos para IATF, principalmente em vacas de corte (BARUSELLI et al., 2004). A melhora na taxa de concepção em animais que receberam o eCG na retirada do dispositivo intravaginal de P4, provavelmente, está relacionada ao aumento da taxa de ovulação dos animais em anestro e as maiores concentrações de progesterona circulante no diestro (BARUSELLI et al., 2004) minimizando falhas no reconhecimento fetal da gestação (MANN; HARESIGN, 2001).

Tabela 8: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com a classe de intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (CLAPROT) e tipos de protocolos de sincronização do estro.

Protocolo	CLAPROT				Geral
	0	1	2	3	
1	87/243(35,8) ^{aA}	82/204 (40,2) ^{aA}	66/153 (43,1) ^{aA}	14/41 (34,2) ^{aA}	249/641 (38,5)
2	42/116 (36,2) ^{aA}	24/71 (33,8) ^{aA}	33/72 (45,8) ^{abA}	3/15 (20,0) ^{aA}	102/274 (37,2)
3	58/176 (32,9) ^{aA}	72/179 (40,2) ^{aA}	28/91 (30,8) ^{acA}	13/37 (35,1) ^{aA}	171/483 (35,4)
4	21/27 (77,8) ^{bA}	13/19 (68,4) ^{bA}	8/14 (57,1) ^{aA}	6/12 (50,0) ^{aA}	48/72 (66,7)
5	45/119 (37,8) ^{aA}	81/204 (39,7) ^{aA}	53/152 (34,9) ^{aA}	24/52 (46,1) ^{aA}	203/527 (38,5)
6	20/46 (43,5) ^{aA}	57/132 (43,2) ^{aA}	26/61 (42,6) ^{aA}	10/26 (38,5) ^{aA}	113/265 (42,6)
Geral	273/727 (37,5) ^A	329/809 (40,7) ^A	214/543 (39,4) ^A	70/183 (38,2) ^A	886/2262 (39,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; P = 0,05).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; P = 0,05).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

CLAPROT = 0: sem estro antes da colocação do dispositivo intravaginal; CLAPROT = 1: < 16 dias entre o último estro e a colocação do dispositivo intravaginal; CLAPROT = 2: ≥ 16 a 65 dias do último estro a colocação do dispositivo intravaginal; CLAPROT = 3: ≥ 66 dias do último cio a colocação do implante.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

Sanchez e colaboradores (1995) estudando a relação de dispositivo intravaginal de progesterona e pico de LH, verificaram que um dispositivo intravaginal contendo 3mg de norgestomet em novilhas em anestro sem um corpo lúteo (CL) resultou em um pulso de hormônio luteinizante (LH) típico de uma fase folicular (aproximadamente 1 pulso/hora). No entanto, dois ou 4 implantes de norgestomet suprime a frequência do pulso de LH para a fase luteal, corroborando aos estudos anteriores onde verificaram que a progesterona modula a concentração de LH e a pulsatilidade, tendo como consequência, o crescimento do folículo ovulatório (ANDERSON, 2001). No presente estudo, era de se esperar que o grupo de animais que já ciclaram apresentasse um resultado melhor do que as receptoras da classe que não ciclaram, o que não foi observado no presente estudo. Tanto na classe 0 quanto na classe 1, o protocolo 4 apresentou a melhor taxa de prenhez. Entre os demais protocolos e as classes analisadas não se observou diferença entre os mesmos (P >0,05).

Tabela 9: Taxa de prenhez em receptoras bovinas de embriões de PIV, de acordo com intervalo do estro anterior até o momento da colocação do dispositivo intravaginal (IEPROT) e tipos de protocolos de sincronização do estro.

Protocolo	Animais agrupados quanto ao intervalo do estro a colocação do implante							Geral
	0	1	2	3	4	5	6	
1	87/243 (35,8) ^{abA}	82/204 (40,2) ^{abA}	50/122 (41,0) ^{abA}	14/27 (51,8) ^{abA}	10/26 (38,5) ^{abA}	6/18 (33,3) ^{abA}	0/1 (0)*	249/641 (38,8)
2	42/116 (36,2) ^{abA}	24/71 (33,8) ^{abA}	25/57 (43,9) ^{abA}	8/15 (53,3) ^{abA}	2/11 (18,2) ^{abA}	1/4 (25,0)*	-*	102/274 (37,2)
3	58/176 (32,9) ^{abA}	72/179 (40,2) ^{abA}	10/29 (34,5) ^{abA}	18/59 (30,5) ^{abA}	8/27 (29,6) ^{abA}	3/10 (30,0) ^{abA}	2/3 (66,7)*	171/483 (35,4)
4	21/27 (77,8) ^{ba}	13/19 (68,4) ^{ba}	2/2 (100)*	6/12 (50,0) ^{abA}	3/4 (75,0)*	3/8 (37,5)*	-*	48/72 (66,7)
5	45/119 (37,8) ^{ba}	81/204 (39,7) ^{abA}	19/57 (33,3) ^{abA}	33/93 (35,5) ^{abA}	14/30 (46,7) ^{abA}	9/18 (50,0) ^{abA}	2/6 (33,3)*	203/527 (38,5)
6	20/46 (43,5) ^{abA}	57/132 (43,2) ^{abA}	6/21 (28,6) ^{abA}	20/40 (50,0) ^{acA}	3/7 (42,9)*	4/16 (25,0) ^{abA}	3/3 (100)*	113/265 (42,6)
Geral	273/727 (37,5) ^A	329/809 (40,7) ^A	112/288 (38,9) ^A	99/246 (40,2) ^A	40/105 (38,1) ^A	26/74 (35,1) ^A	7/13 (53,8) ^A	886/2262(39,2)

^{a,b} = Valores seguidos de letras minúsculas semelhantes na mesma coluna não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

^{A,B} = Valores seguidos de letras maiúsculas semelhantes na mesma linha não diferem entre si ($\chi^2_{GL1} = 3,84$; $P > 0,05$).

*n/N (%)= número de fêmeas/ total de fêmeas e percentual no protocolo.

Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal=0: sem estro antes da colocação do dispositivo intravaginal; Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal=1: < 16 dias entre o último estro e a colocação do dispositivo intravaginal; Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal= 2: ≥ 16 a 30 dias do último estro a colocação do dispositivo intravaginal; Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal= 3: ≥ 31 a 45 dias do último estro a colocação do dispositivo intravaginal; Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal= 4: ≥ 46 a 65 dias do último estro a colocação do dispositivo intravaginal; Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal= 5: ≥ 66 a 90 dias do último estro a colocação do dispositivo intravaginal; Intervalo do estro a colocação do dispositivo intravaginal= 6: ≥ 91 dias do último estro a colocação do implante.

Protocolo 1: Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 2:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 400 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias; **Protocolo 3:** Aplicação de 2 mg de BE e 500 µg de PGF2α no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 4:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de CE e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 5:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo, 500 µg de PGF2α 48 horas da retirada, 1,0 mg de ECP e 400 UI de eCG no momento da retirada com 9 dias; **Protocolo 6:** Aplicação de 2 mg de BE no momento da inserção do dispositivo e 1,0 mg de CE, 500 µg de PGF2α e 300 UI de eCG no momento da retirada com 8 dias.

4. Conclusões:

O Protocolo empregando dispositivo intravaginal associado a BE no início, CE e eCG no final e PGF2 α dois dias antes do final do protocolo de sincronização propicia melhores taxas de prenhez entre os outros protocolos.

Embriões em estágio de desenvolvimento de blastocisto expandido resultam melhores taxas de prenhez que embriões em estágio de desenvolvimento blastócitos. O número de utilizações dos dispositivos não influencia a taxa de prenhez; há tendência de sincronia de estro apresentar melhores valores percentuais na taxa de prenhez que a assincronia de estro. Categoria de vacas e novilhas, desde que em sincronia com a doadora, não influenciam a taxa de prenhez de receptoras de embrião. A classificação uterina e a classificação ovariana não interferem na taxa de prenhez, embora no presente estudo tenha sido observado efeito quando associou ao protocolo 4. Receptoras que não apresentaram estro ou manifestaram o estro a menos de 16 dias da colocação do dispositivo intravaginal apresentam as melhores taxas de prenhez embora esteja relacionado ao tipo de protocolo de sincronização empregado.

De forma geral, protocolo, estágio de desenvolvimento embrionário, sincronia de estro entre doadora e receptoras, categoria de fêmeas, classificação uterina e ovariana e classes e/ou intervalo de estros não influenciaram de forma marcante a resposta de sincronização e taxa de prenhez em receptoras de embriões, independentes dos protocolos empregados, exceto o protocolo 4 (sem Cloprostenol na colocação do dispositivo).

5. Referências Bibliográficas

ANDERSON, L.E. et al. Prostaglandin F_{2α} receptor in the Corpus Luteum: recent information on the gene, messenger ribonucleic acid, and protein. **Biology of Reproduction**, v.64, p. 1041-1047, 2001.

AYRES H.; FERREIRA MR.; MARTINS C.M.; REIS P.O.; Efeito da administração de PGF no início do protocolo de sincronização de novilhas submetidas à TETF. Maio 2009

<http://www.beefpoint.com.br/?noticialID=53969&actA=7&arealD=60&secaoID=181>
acessado dia 16 de junho de 2009

BARUSSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; REIS, E.L.; BÓ, G.A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR devices for timed artificial insemination. *Theriogenology*, v. 59, p. 214, 2003.

BARUSSELLI, P. S.; MADUREIRA, E. H. ; MARQUES M. O.; RODRIGUES, C.A.; NASSER, L.F.; SILVA, R.C.P.; REIS, E.L.; SÁ FILHO, M.F. Efeito do tratamento com ECG conforme o escore de condição corporal na taxa de concepção de vacas Nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p.228, 2004.

BARUSSELLI, P.S. Plasmatic progesterone concentration and pregnancy rate of bovine females synchronized to FIAI with Syncrogest® (intravaginal progesterone device). **Animal Reproduction** v.6, n.1, p. 306, jan./mar. 2008.

BINELLI M.; MACHADO R.; BERGAMASCHI M.A.C.M.; BERTAN C.M. Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in Cattle. **Animal reproduction** v.6,n.1, p,125-134, Jan./marc. 2009.

BLOCK J.; BONILLA L.; HANSEN P. Effect of addition of hyaluronan to embryo culture medium on survival of bovine embryos in vitro following vitrification and establishment of pregnancy after transfer to recipients **Theriogenology** v.71, p. 1063–1071, 2009.

BÓ, G.A.; MORENO D.; CUATAIA L.; BARUSSELLI P.S.; REIS, EL. Manipulação hormonal do ciclo estral de doadoras e receptoras de embriões bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, 32 (suplemento): p. 1-22, 2004.

BORSATO E.A.; LUDWIG JR.; SILVA, D.R.M.; BARREIROS T.R.R.; SENEDA M, M. Comparação das perdas gestacionais de receptoras inovuladas com embriões *Bos indicus* produzidos In Vivo e In vitro **Acta Scientiae Veterinariae** 33(Suplemento 1): p. 185, 2005.

CARVALHO, J.; CARVALHO, N.; REIS, E.; NICHII, M.; SOUZA, A.; BARUSSELLI, P. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v. 69, p. 167-175, 2008.

COLAZO, M. G.; KASTELIC, J. P.; WHITTAKER, P. R.; GAVAGA, Q. A.; WIDE, R.; MAPLETOFT, R. J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert and estradiol, with or without progesterone. **Animals Reproduction Science**, v. 81, p. 25-34 2004.

FERREIRA R.M.; RODRIGUES C.A.; AYRES H.; MANCHILLA P.H.; FRANCESCHINI C.R.; ESPER C.R.; BARUSELLI P.S. Effect of synchronizing ovulation in cattle administered a norgestomet ear implante in association with eCG and estradiol treatments on pregnancy rate after fixed- time embryo transfer. **Animal Reproduction** v.3, n. 3. P 370-375, Jul/ Sept. 2006.

JONES A.L; LAMB G.C. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients **Theriogenology** 69. 107–115, 2008.

LEAL L.S.; OBA, E.; FERNANDES C.A.C.; SÁ FILHO O.G. Avaliação do corpo lúteo, tônus uterino e concentração plasmática de progesterona e estradiol de novilhas receptoras no dia da transferência de embriões. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1) p. 223,2005.

MAIO J.R.G.; SOUZA E.D.F.; CARREIRO S.S.; SALES J.N.S.; CREPALDI G.A.; SILVA K.C.F.; SANTOS G.M.G.; SÁ FILHO M.F.; CARVALHO M.M.; SENEDA M.M.; BARUSELLI P.S. Plasmatic progesterone concentration and pregnancy rate of bovine females synchronized to FIAI with Sincrogest® (intravaginal progesterone device). **Animal Reproduction** v.6, n.1, p. 306, jan./mar. 2009.

MANN, G. E.; HARESIGN, W. Effect of oestradiol treatment during GnRH-induced ovulation on subsequent PGF2alpha release and luteal life span in anoestrous ewes. **Animal Reproduction Science**, v. 67, p. 245-252, 2001.

MARIANI A.C.B. Influência do dia estro em relação à PIV e à morfologia do corpo lúteo no dia da inovulação com os índices de prenhez em receptoras de embriões bovinos produzidos *in vitro* Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, 2009.

MARQUES M.O.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; FIGUEIREDO T.B.; SORIA G.F.; BARUSELLI P.S. Efeito do tratamento com PGF2α na inserção e/ou tratamento com ECG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção á Inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae** 1: p.287, [Abstract]. 2005.

MARTINEZ MF.; KASTELIC JP.; ADAMS GP.; COOK RB.; OLSON WO.; MAPLETOFT RJ. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology** v.57 p.1049-1059, 2002.

MARTINEZ, M.F.; BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. *Biotechnologia da Reprodução em Bovinos. I Simposio International de Reprodução Animal Aplicada*, Londrina, 2004.

MARTINS C.M.; CASTRICINI E.S.C.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES L.U.; BARUSELLI P.S. Dinâmica folicular em novilhas e vacas nelores (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou a não a progesterona injetável. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.227, 2005a.

MARTINS, C. M.; CASTRICINI, E. S. C.; SÁ FILHO, M. F.; GIMENES, L. U. BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas Nelores tratadas com cipionato ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. Annual Meeting of Brazilian Technology Society. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p.285, 2005b.

MELO, W.O.; SOUZA, J.A.T.; ELIAS A.K.S.; ROCHA, I.J.; MARTINEZ, J.J.M.; TORRES JÚNIOR, J.R.S. Efeito do éster de estradiol e da aplicação de prostaglandina na taxa de concepção de vacas nelore (*Bos indicus*) sincronizada para Inseminação Artificial em Tempo Fixo. **Anaispibic 2008**.cpatu.embrapa.br/.../10_Waldjano_de_Oliveira_Melo. PDF.

MIHM M, CURRAN N, HYTTEL P, KNIGHT PG, BOLAND MP, ROCHE JF. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid oestradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. **J Reproduction Fertility**;116:293–304,1999.

NIWMANN H, SACHER B, ELASAESSER F. Pregnancy rates relative to recipient plasma progesterone levels on the day of non-surgical transfer of frozen/thawed bovine embryos. **Theriogenology**;23:631–9, 1985.

PEIXOTO M.G, BERGMANN J.A, SUYAMA E., CARVALHO M.R, PENNA V.M. Logistic regression analysis of pregnancy rate following transfer of *Bos indicus* embryos into *Bos indicus* x *Bos taurus* heifers. **Theriogenology** 67(2):287-92, 15 Jan 2007.

PENTEADO, L. SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C. L.; GIMENES, L. U.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Conception rates in lactating Nelore cows treated with intravaginal progesterone device associated with estradiol benzoate or cypionate. Annual meeting of Brazilian technology society. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 260, 2005.

PERES R.F.G; CLARO J.R. I; COSTA M; AONO F.H.S; PEREIRA M.H; LOPES C.N; SÁ FILHO O.G; VASCONCELOS J.L.M; Pre and post ovulatory progesterone concentrations in Nelore cattle after AI. **Acta Scientiae Veterinariae**, 36(supl. 2):s613. 2008 (abstract).

PERRY GA, SMITH MF, ROBERTS AJ, MACNEIL MD, GEARY TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. **Journal Animal Science**;85:684–9, 2007.

PFEIFER L.M.F.; SIQUEIRA L.G.; MAPLETOFT.; KASTELIC J.P.; ADAM G.P.; COLAZO M.G.; SINGH J. effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepuberal heifers. **Theriogenology** 72 1054-1064, 2009.

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

REIS, E. L. Reprodução Animal: **Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica equina no protocolo de sincronização da ovulação para T. E. T. F.** Dissertação (Mestrado) - FMVZ departamento de Reprodução animal, São Paulo, 101f. 2004.

REZENDE C.R.; NASSER L.F.; REZENDE, L.F.; NUNEZ M.M.; VIEIRA M.P.; AYRES H.; SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; MARUSELLI P.S. Efeito no momento da administração da PGF2 α e da dose de ECG na sincronização da ovulação para inovulação em tempo fixo em novilhas. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.225, 2005.

SÁ FILHO M.F.; GIMENES L.U.; AYRES H.; CARVALHO J.B.P.; CARVALHO N.A.T.; BARUSELLI P.S. Dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* tratadas com implante auricular de norgestomet ou dispositivo intravaginal de progesterona. **Acta Scientiae Veterinariae** 33 (suplemento 1): p.266, 2005.

SÁ FILHO M.F.; TORRES-JÚNIOR J.R.S.; PENTEADO L.; GIMENES L.U.; FERREIRA R.M, AYRES H. ; CASTRO E PAULA L.A.; SALES J.N.S., BARUSELLI P.S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science** 118, 182–187, 2010.

SANCHEZ T; WEHRMAN ME; KOJIMA FN; CUPP AS; BERGFELD EG; PETERS KE, et al. Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17 beta-estradiol in heifers. **Biology of Reproduction**;52:464–9,1995.

SIQUEIRA, L.G.B.; VIANA, J.H.M.; DINIZ, E.S.; CAMARGO, L.S.; OLIVEIRA, A.P.; FERNANDES, C.A.C.; TORRES, C.A.A. área de tecido luteal em receptoras de embrião sincronizadas e com ovulação espontânea ou induzida por benzoato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae** v.34 (suplemento 1) p. 495, 2006.

SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.; ROVANI, M.T.; FERREIRA, R.; BORGES, L.F.; GONÇALVES L.F. Effects of estradiol and progestins on follicular regression before, during, and after follicular deviation in postpartum beef cows. **Theriogenology** v.71 p.614–619, 2009.

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

VERONESI M.C; GABAI G.; BATTOCCHIO M.; MOLLO A.; SOLDANO F.; BONO G.; CAIROLINI.; Ultrasonografic apperance of tissue is a better indicator of CL function than CL diameter measurement in dairy cows. **Theriogenology** 58 61-68, 20002.

VIEL JUNIOR, J.O. Transferência de embriões bovinos. Curso de especialização *Latu Sensu* em produção e reprodução de bovinos. **Universidade Castelo Branco**, Três Lagoas 2007.
<http://WWW.qualittas.com.br/documento/transferencia%20de%20embrioes%20debov>

inos%20-joao%20odair%20viel%20junior.PDF. acessado dia 20 de dezembro de 2009.