

FABRÍCIO ALBANI OLIVEIRA

**ESTRATÉGIAS ADICIONAIS EM PROTOCOLOS DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM FÊMEAS
BOVINAS**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

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

T

O48e
2013

Oliveira, Fabricio Albani, 1984-
Estratégias adicionais em protocolos de inseminação
artificial em tempo fixo em fêmeas bovinas / Fabricio Albani
Oliveira. – Viçosa, MG, 2013.
x, 111f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Bovino - Inseminação artificial. 2. Bovino - Reprodução.
3. Ovulação - Indução. 4. Inseminação artificial. 5. Estradiol.
6. Aminoácidos. 7. Biotecnologia. 8. Hormônios. I. Universidade
Federal de Viçosa. Departamento de Zootecnia. Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 636.208245

FABRÍCIO ALBANI OLIVEIRA

**ESTRATÉGIAS ADICIONAIS EM PROTOCOLOS DE
INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM FÊMEAS
BOVINAS**

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

APROVADA: 08 de Agosto de 2013.

Prof. Giovanni Ribeiro de Carvalho

Prof. José Domingos Guimarães

Dr. Claudio José Borela Espescht

Prof. Vinício Araújo Nascimento

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres
(Orientador)

Aos meus pais, João Batista e Maria de Fátima, por todo amor e dedicação incondicionais, modelo de vida e incentivo, que me fortalece e me faz seguir em busca dos “nossos” sonhos.

Aos meus irmãos, Thiago, Phelipe e Thaís, pela amizade e pelo companheirismo.

Dedico

*"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis."*

Fernando Pessoa

*"É preciso aprender com a prática, pois,
embora você pense que sabe, só terá
certeza depois que experimentar."*

Sófocles

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida e por todas minhas realizações.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade da realização do curso de mestrado e doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos e pelo financiamento do projeto.

Ao professor Ciro Alexandre Alves Torres, pela orientação, pela amizade e pelos conselhos fundamentais para realização deste trabalho.

Ao professor Giovanni Ribeiro de Carvalho e José Domingos Guimarães, pela co-orientação e pelos ensinamentos dados.

Ao professor Claudio José Borela Espescht, por fazer parte da banca examinadora.

Ao professor Vinício Araújo Nascimento, por fazer parte da banca examinadora, pela sincera amizade e por toda a ajuda prestada.

À Alessandra, pelo amor, paciência, companheirismo e toda ajuda prestada na realização deste trabalho.

Aos demais professores responsáveis pela minha formação acadêmica, pelos ensinamentos e conselhos.

Ao amigo, Jurandy, pela amizade, conselhos, paciência, pois sem a ajuda dele a execução do trabalho ficaria prejudicada.

Aos amigos Leo, Tuta, Dudu, Gustavo, Cayo, Luizão, Renato, Lucas e Douglas pela ajuda prestada na realização dos experimentos.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia e da fazenda, pela colaboração e pelo convívio.

Aos amigos e colegas de curso, Isis, Bruno, Joanna, Camila, Carol, Madriano, Pedro, Carlos, Julio, Erly, Bruna, Juliana, João, Marcos, Alberto, Lucas e a todos os moradores das repúblicas - Grozop, Toca do Tatu, Cavalo Deitado, Mói Cana, Alambique e, em especial, Vaca Véia e Bacu Bacu - pela amizade, convivência e incentivo nas horas mais difíceis.

À todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a elaboração desta tese.

BIOGRAFIA

FABRÍCIO ALBANI OLIVEIRA, filho de João Batista Galvêas Oliveira e Maria de Fátima Albani Oliveira, nasceu em Guaçuí, Espírito Santo, em 06 de maio de 1984.

Em março de 2003, ingressou na Universidade Federal de Viçosa, no curso de Medicina Veterinária, colando grau em 18 de janeiro de 2008.

Em março de 2008, iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Fisiologia da Reprodução, submetendo-se à defesa de dissertação em 10 de julho de 2009.

Em agosto de 2009, iniciou o curso de Doutorado em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na mesma área elegida no Mestrado, Fisiologia da Reprodução, submetendo-se à defesa de tese em 08 de agosto de 2013.

SUMÁRIO

| | |
|--|--------------------------------------|
| RESUMO | ix |
| ABSTRACT | x |
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 4 |
| 2.1. Progesterona | 5 |
| 2.2. Estrógeno..... | 7 |
| 2.3. Prostaglandina | Erro! Indicador não definido. |
| 2.4. Hormônio Liberador de Gonadotropinas | 11 |
| 2.5. Gonadotropina Coriônica Equina | 13 |
| 2.6. Somatotropina Bovina Recombinante (rbST) | 15 |
| 2.7. Flunixin Meglumine | 18 |
| 2.8. Suplementação parenteral com aminoácidos | 19 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 21 |
| Somatotropina recombinante bovina (rbST) em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (<i>Bos taurus indicus</i> x <i>Bos taurus taurus</i>) | 32 |
| Resumo: | 32 |
| Abstract: | 33 |
| 1. Introdução | 34 |
| 2. Material e Métodos..... | 35 |
| 3. Resultados e Discussão | 38 |
| 4. Conclusão | 46 |

| | |
|--|------------|
| 5. Referências Bibliográficas | 46 |
| Suplemento injetável de aminoácidos e polipeptídeos em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (<i>Bos taurus indicus</i> x <i>Bos taurus taurus</i>) | 533 |
| Resumo: | 533 |
| Abstract: | 54 |
| 1. Introdução | 55 |
| 2. Material e Métodos | 566 |
| 3. Resultado e Discussão | 61 |
| 4. Conclusão | 688 |
| 5. Referências Bibliográficas | 68 |
| | |
| Administração de flunixin meglumine do 14º ao 16º dia após a inseminação artificial em tempo fixo de vacas e novilhas mestiças (<i>Bos taurus indicus</i> x <i>Bos taurus taurus</i>) | 733 |
| Resumo: | 733 |
| Abstract: | 744 |
| 1. Introdução | 755 |
| 2. Material e Métodos | 766 |
| 3. Resultados e Discussão | 79 |
| 4. Conclusão | 844 |
| 5. Referências Bibliográficas | 844 |
| | |
| Eficácia da utilização de diferentes indutores de ovulação em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (<i>Bos taurus indicus</i> x <i>Bos taurus taurus</i>) | 889 |
| Resumo: | 889 |
| Abstract: | 900 |
| 1. Introdução | 91 |
| 2. Material e Métodos | 92 |
| 3. Resultados e Discussão | 955 |
| 4. Conclusão | 1044 |
| 5. Referências Bibliográficas | 1044 |
| | |
| 4. CONCLUSÕES GERAIS | 111 |

RESUMO

OLIVEIRA, Fabrício Albani, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2013.
Estratégias adicionais em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em fêmeas bovinas. Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres.

Objetivou-se avaliar estratégias adicionais em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), quanto à dinâmica folicular e à taxa de prenhez. Foram realizados quatro trabalhos. No trabalho 1 foi avaliado o efeito da administração de somatotropina bovina recombinante (rbST) no momento da aplicação do protocolo de IATF. No trabalho 2 foi avaliado o efeito da administração injetável de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, desde o dia do parto até o momento da aplicação do protocolo de IATF. No trabalho 3 foi avaliada a influência da administração de flunixin meglumine (FM) no momento do reconhecimento materno da gestação sobre a taxa de prenhez de novilhas e vacas, submetidas previamente a protocolos de IATF. No trabalho 4 foi avaliada a eficiência de três diferentes indutores da ovulação: benzoato de estradiol (BE), cipionato de estradiol (CE) e hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), em protocolos de IATF. Em nenhum trabalho foi verificada influência marcante entre os tratamentos sobre os padrões avaliados de dinâmica folicular e sobre a taxa de ovulação. No trabalho 1 não houve interação dos efeitos principais, com taxa de prenhez. A taxa de prenhez nas vacas recebendo rbST foi menor para as que se apresentavam em anestro, comparando com as vacas cíclicas ($P < 0,05$). No trabalho 2 a taxa de prenhez sofreu influência da administração prévia de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos ($P < 0,05$). A taxa de prenhez foi maior para as vacas cíclicas em relação às em anestro ($P < 0,05$). No trabalho 3 a administração do (FM) no momento do reconhecimento materno da gestação não alterou a taxa de prenhez das vacas e novilhas. No trabalho 4 a administração dos diferentes indutores da ovulação, BE, CE, e GnRH, em protocolo de IATF em vacas mestiças não alterou a taxa de prenhez.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Fabrício Albani, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2013.
Additional strategies in protocols of timed artificial insemination in cows.
Advisor: Ciro Alexandre Alves Torres.

The objective was to evaluate additional strategies in protocols of fixed-time artificial insemination (TAI), as the follicular dynamics and pregnancy rate. Four studies were conducted. In study 1 it was evaluated the effect of the administration of recombinant bovine somatotropin (rbST) at the time of application of the TAI protocol. At work 2 it was evaluated the effect of injectable administration of supplements of amino acids and polypeptides, since the day of birth until the time of application of the TAI protocol. At work 3 it was evaluated the influence of the administration of flunixin meglumine (FM) at the moment of maternal recognition of pregnancy over the pregnancy rate of heifers and cows, previously submitted to TAI protocols. At work 4 it was evaluated the efficiency of three different ovulation inducers: estradiol benzoate (EB), estradiol cypionate (EC) and gonadotropin releasing hormone (GnRH) in TAI protocols. It wasn't verified in any study the marked influence between the treatments over the evaluated patterns on follicular dynamics and over the ovulation rate. In study 1 there was no interaction of the main effects, the administration of rbST and the cyclicity of cows for the pregnancy rate. The pregnancy rate in cows receiving rbST was lower for those who had anestrus, compared with cyclic cows ($P < 0.05$). At work 2 the pregnancy rate was influenced by the previous administration of the amino acids and polypeptides supplements ($P < 0.05$). The pregnancy rate was higher for the cyclic cows in relation to the anestrus ones ($P < 0.05$). At work 3 the administration of the (FM) at the time of the maternal recognition of pregnancy did not alter the pregnancy rate in cows and heifers. At work 4 the administration of the different inductors of ovulation, EB, EC, and GnRH at TAI protocol in crossbred cows did not alter the pregnancy rate ($P > 0.05$).

1. INTRODUÇÃO

O rebanho leiteiro brasileiro é composto predominantemente (74%) por animais mestiços Holandês x Zebu (VILELA, 2003) que, somados aos animais não especializados (20%), constituem 94% do rebanho. Este panorama demonstra a importância social e econômica de vacas mestiças para o país, e sua exploração aparece como alternativa viável para diversos sistemas de produção que buscam redução no custo a partir de animais mantidos em regime de pastejo (RUAS *et al.*, 2008). As vacas mestiças possuem características desejáveis como rusticidade, capacidade produtiva e adaptação às limitações existentes na maioria das fazendas, bem como maior resistência e boa produtividade (FERREIRA *et al.*, 1996).

A redução do intervalo de partos aumenta o número de partos e a produção de leite durante a vida produtiva da vaca. O intervalo de parto (IP) de 12 a 13 meses traz benefícios econômicos, mas é difícil de ser obtido na prática devido aos problemas de manejo associados ao ciclo reprodutivo da vaca (AYRES *et al.*, 2013). Com isso, o conhecimento e a aplicação da biotécnica Inseminação Artificial (IA), associada à administração de hormônios para o controle endócrino da fisiologia reprodutiva das fêmeas, é uma alternativa. Assim, tem-se difundido estudos para a eficiência da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) com a administração de hormônios, visto que, podem proporcionar a sincronização da ovulação por encurtar ou prolongar o ciclo estral.

Com o uso da IATF, vacas logo após o período puerperal podem ser inseminadas. Desta maneira, espera-se maior taxa de vacas prenhes em período determinado após o parto, de maneira que, o IP médio do rebanho fique entre 12 a 13

meses (CAVESTANY *et al.*, 2007; GUTIÉRREZ-PASCUAL, 2009; HERLIHY *et al.*, 2011).

Indiretamente, a difusão da biotécnica IATF contribui para incremento no melhoramento genético dos rebanhos, e, conseqüentemente, para o desenvolvimento do agronegócio da pecuária, visto que, estes programas otimizam a utilização da IA, aumentando o número de produtos oriundos de touros com superioridade genética comprovada (PEGORER *et al.*, 2011), pois a detecção do estro é o principal fator que influencia a eficiência de programas de IA convencional em bovinos. Sendo assim, o uso IATF tem aumentado expressivamente em decorrência das facilidades de realização e dos resultados dos programas de IA a campo (RIBEIRO *et al.*, 2011).

Os resultados dos protocolos de IATF precisam ser consistentes e com boa receptibilidade, possibilitando a obtenção de elevadas taxas de prenhez em diferentes locais e situações (SIQUEIRA *et al.*, 2008). De igual modo, é importante induzir a ovulação fértil na maioria dos animais tratados (ODDE, 1990), estando eles ciclando regularmente ou em anestro (WILTBANK, 1975).

O uso dos hormônios da área reprodutiva em fêmeas bovinas baseia-se em três efeitos principais: 1) indução da luteólise por agentes luteolíticos, como a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), eficaz em vacas cíclicas; 2) manipulação de folículos e corpo lúteo pela combinação entre GnRH e $PGF_{2\alpha}$; 3) administração exógena de progesterona (P_4) ou seus derivados sintéticos, simulando a função do corpo lúteo. Este último procedimento é eficiente em induzir a ovulação em vacas acíclicas (PIMENTEL 2005; BARUSELLI, *et al.*, 2006; MADUREIRA *et al.*, 2009). A visualização dos efeitos das associações hormonais é obtida por exames ultrassonográficos que são utilizados para determinação da dinâmica folicular, fixando assim, o momento ideal de inseminação para maior taxa de concepção (NASCIMENTO, 2009).

Atualmente, empregam-se vários protocolos de IATF de fêmeas bovinas. Na literatura, observa-se o uso frequente do protocolo PEPE (BARROS & ERENO, 2004), pelo qual são utilizados os hormônios: progesterona - estrógeno – prostaglandina - estrógeno. O PEPE consiste na administração de BE (2,0 mg, via IM) no momento da inserção do dispositivo (Dia 0), aplicação de $PGF_{2\alpha}$ no dia da remoção do dispositivo (Dia 8) e 1,0 mg de BE (via IM) 24 horas mais tarde. A IATF é realizada no período de 24 a 30 horas após a última aplicação de BE.

O hormônio somatotropina recombinante bovina (rbST) é utilizado em vacas leiteiras para aumento de produção de leite, porém seus efeitos sobre a reprodução

necessitam de mais estudos (ROSSETI *et al.*, 2011). A rbST estimula a produção do hormônio do crescimento (GH) endógeno e do fator de crescimento semelhante à insulina I(IGF-I; LUCY, 2000). No útero e nos ovários são observados receptores ao rbST (LUCY, 2000).

A aplicação de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, obtidos por meio da hidrólise ácida e enzimática de órgãos e glândulas, é considerada segura e indicada em nutrição animal (CORRÊA *et al.*, 1998; CAMPOS NETO *et al.*, 2003). Paffenholz & Theurer (1980) evidenciaram o estímulo da síntese de DNA e RNA, além da proliferação celular, quando da aplicação parenteral do hidrolisado de órgãos e glândulas. Estudos realizados por Baldwin *et al.* (1994), descreveram a existência de fortes evidências indicando que os aminoácidos livres provenientes de uma fonte externa (hidrolisados de órgãos e glândulas) são diretamente direcionados para a síntese proteica, não se misturando com os aminoácidos intracelulares provenientes do *turnover* de proteínas preexistentes, e reforçando a hipótese de que a síntese de proteína dos órgãos e glândulas, que deram origem aos aminoácidos livres, é beneficiada devido à especificidade relativa entre eles.

Estratégias anti-luteolíticas utilizando anti-inflamatórios não esteroidais objetivam incrementar a probabilidade de sucesso da gestação pela interferência no processo de reconhecimento materno. Tais estratégias visam a diminuição da capacidade luteolítica da unidade maternal, ou seja, visam inibir a síntese de prostaglandina, atrasando o ciclo estral. Acredita-se, neste sentido, que este atraso permite ao conceito se desenvolver e produzir IFN- τ suficiente para prevenir a luteólise e manter a gestação (AKÉ-LÓPEZ *et al.*, 2005).

Outros indutores de ovulação também têm sido utilizados com eficácia, como o cipionato de estradiol (CE) em *Bos taurus indicus* (SÁ FILHO *et al.*, 2009; MENEGHETTI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010a) e hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) em *Bos taurus taurus* (TEIXEIRA, 2010). O CE pode ser administrado no momento da retirada do dispositivo de progesterona (CREPALDI, 2009) e o GnRH no momento da IA (TEIXEIRA, 2010; GOTTSCHALL *et al.*, 2012; KASIMANICAM *et al.*, 2012). A substituição do BE pelo CE ou GnRH, se não comprometer a eficiência da IATF, é interessante, pois reduz um manejo na aplicação do protocolo.

Deste modo, objetivou-se estudar estratégias adicionais em protocolos de Inseminação Artificial em Tempo Fixo em fêmeas bovinas.

2.REVISÃO DE LITERATURA

Os protocolos hormonais aplicados em novilhas ou vacas visam aumentar a taxa de concepção em um período reduzido (BARUSELLI *et al.*, 2004) - normalmente ao início da estação reprodutiva, além da potencialização dos benefícios e do ganho genético oriundo da inseminação artificial (AZEREDO *et al.*, 2007).

Entretanto, é importante que os resultados apresentados a partir do uso desses protocolos sejam consistentes e com boa repetitividade, conforme citado anteriormente, possibilitando que elevadas taxas de prenhez sejam obtidas em diferentes locais e situações (SIQUEIRA *et al.*, 2008). A aplicação eficiente dessas terapias poderá permitir, então, uma maior sincronização da ovulação, elevando a taxa de animais observados em estro, e, também, a eficiência quando se utiliza inseminação artificial (BÓ *et al.*, 2003).

A sincronização do estro e a sincronização da ovulação ocorrem de maneiras distintas. Nesse sentido, existem pré-requisitos básicos para a utilização dos diferentes tipos de sincronização, relacionados à utilização de diferentes tratamentos hormonais, à categoria animal que melhor responde a cada tipo de sincronização e aos pontos mínimos críticos que devem ser respeitados em cada situação (GOTTSCHELL *et al.*, 2012).

Para a sincronização do estro são utilizadas, basicamente, substâncias análogas da Prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}). Entretanto, existe grande variação no intervalo do tratamento com PGF_{2α} à ovulação, sendo este, dependente do grau de maturidade do folículo dominante (BORGES, 2009). Desse modo, os protocolos de sincronização do

estros não dispensam a observação dos animais em estro, visto que, não há uma sincronização do momento da ovulação, como se pode constatar.

Assim, deve-se atentar que a resposta à aplicação da PGF2 α depende da presença de um corpo lúteo funcional, conforme se percebe. Em vacas, no período pós-parto, é baixa a porcentagem de resposta à PGF2 α em função da alta incidência de anestro. Nesse sentido, a sincronização de estros com PGF2 α apresenta os melhores resultados quando realizada em novilhas ou vacas solteiras em boas condições nutricionais, pois tendem a apresentar estros regulares.

A sincronização da ovulação consiste na utilização de diferentes tratamentos hormonais, visando encurtar ou prolongar o ciclo estral e permitindo a inseminação artificial das vacas em tempo pré-determinado, denominada Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF).

Vários protocolos são descritos pela literatura, os quais apresentam resultados variáveis dependendo da condição sanitária e nutricional das fêmeas. Para a escolha do protocolo, devem ser analisadas as condições individuais de cada rebanho, além da relação custo/benefício do seu uso (MORAES *et al.*, 2001). Esses tratamentos, quando adequados, e respeitando a fisiologia animal, poderão ser muito atrativos por permitirem uma racionalização na utilização da inseminação artificial (IA).

Existem diversos protocolos utilizados para sincronizar a ovulação: as principais substâncias empregadas nesses protocolos são progesterona e os progestágenos, prostaglandinas e seus análogos (ácidos graxos com propriedades tipo hormonal), estrógenos e os compostos, GnRH e eCG (BARUSELLI *et al.*, 2005).

Segundo Meneghetti *et al.* (2009), os principais protocolos desenvolvidos devem, essencialmente, contemplar os seguintes objetivos: 1) induzir a ovulação em fêmeas bovinas, inclusive em anestro; 2) permitir a inseminação artificial sem a necessidade de detecção do estro (IATF); 3) sincronizar a onda de desenvolvimento folicular; 4) aumentar o crescimento do folículo dominante; 5) impedir a luteólise prematura após a ovulação sincronizada, e, 6) apresentar baixo custo e porcentagem de prenhez relativa à IATF próxima a 50%.

2.1. Progesterona

A Progesterona (P₄) é um hormônio que atua na regulação do funcionamento do sistema reprodutor feminino, sendo secretada pelas células luteínicas do corpo lúteo

(CL). Assim como os estrógenos, é derivada do colesterol, sendo também secretada pela placenta, testículos e córtex adrenal em pequenas quantidades. As concentrações de P₄ permanecem elevadas durante toda a vida funcional do CL, o que é importante para o desenvolvimento embrionário e para a manutenção da gestação, além de bloquear também as ondas de LH e a ovulação (WOAD & ARMSTRONG, 2002).

A administração exógena de P₄, empregada para induzir e sincronizar o estro, mimetiza seus efeitos biológicos, dentre os quais se pode citar a supressão do estro, a inibição do pico pré-ovulatório de LH – que simula a fase luteínica do ciclo - e a regulação da secreção pulsátil de LH. Este processo leva à ocorrência das ondas foliculares e seu desenvolvimento (LARSON & BALL, 1992), associadas com a maturação folicular e ovulação nos dias seguintes ao seu emprego (ODDE, 1990), visto que, a supressão do tratamento progestacional leva à ocorrência do pico de LH (KESNER *et al.*, 1982).

Nesse sentido, grande número de progestágenos sintéticos tem sido utilizados na prática da sincronização do ciclo estral, como: acetato de medroxiprogesterona (MAP); acetato de clormadinona (CAP); acetato de melengestrol (MGA) e acetato de flurogesterona (FGA), que são eficazes como sincronizadores de estro.

As tentativas iniciais em sincronizar o estro em fêmeas bovinas utilizando progestágenos baseavam-se no entendimento de que a P₄ previne a ocorrência de estro e ovulação (CHRISTIAN *et al.*, 1948), atuando sobre o hipotálamo e regulando a liberação de GnRH (MIHM & AUSTIN, 2002) e, conseqüentemente, do LH. Essas tentativas baseavam-se no tratamento com progestágenos por tempo prolongado, de 14 a 21 dias, tempo necessário para que a luteólise ocorresse naturalmente, efetivando a sincronização do estro. Entretanto, a fertilidade deste estro sincronizado é reduzida (ODDE, 1990), ao contrário do que se acreditava. Este efeito ocorre porque a utilização da progesterona por períodos maiores que 13 dias levam à formação de folículos dominantes de maior tamanho (CUSTER *et al.*, 1994; KINDER *et al.*, 1996) e de reduzida fertilidade. A baixa fertilidade pode ser atribuída à maturação espontânea do oócito (quebra da vesícula germinativa e expansão do *cumulus*), presente no folículo persistente (REVAH & BUTLER, 1996).

Para evitar esses problemas de persistência folicular, entende-se que é necessário que o tratamento com progestágenos não seja muito prolongado. A administração contínua de progesterona por 5 a 9 dias inibe a liberação de LH, e, quando há a interrupção de seu fornecimento, uma onda de LH capaz de induzir o crescimento final

do folículo pré-ovulatório é desencadeada, culminando com a ovulação (MORAES *et al.*, 2001).

2.2. Estrógeno

O estradiol 17β (E_2) é um hormônio produzido pelas células da granulosa de folículos em crescimento. São substâncias derivadas do colesterol e seus precursores imediatos são androstenediona e testosterona.

As respostas teciduais induzidas pelos estrógenos incluem a estimulação do crescimento glandular endometrial, a estimulação do crescimento de dutos na glândula mamária, o aumento na atividade secretora dos dutos uterinos, a indução da receptividade sexual, a regulação da secreção de LH e FSH pela hipófise anterior, a regulação da liberação de $PGF_{2\alpha}$ pelo útero não gravídico e gravídico e o anabolismo proteico (SOUZA *et al.*, 2011).

O E_2 endógeno produzido pelos folículos ovarianos acentua a amplitude dos pulsos de LH durante a fase folicular do ciclo estral pelo aumento de receptores do hormônio liberador de LH na hipófise anterior e do consequente aumento da capacidade estrogênica dos folículos pré-ovulatórios (STUMPF *et al.*, 1989). Esse mecanismo de retroalimentação positiva entre o E_2 e o LH é crítico no processo de maturação final do folículo ovulatório, induzindo o comportamento estral e a ovulação (FIKE *et al.*, 1997).

A administração de E_2 exógeno pode estimular ou inibir a liberação de gonadotrofinas, dependendo da dose e das concentrações sanguíneas de progesterona. Em doses fisiológicas e baixas concentrações de progesterona, o E_2 estimula a liberação de LH para que ocorra a ovulação. Mas, ao contrário, elevadas doses de E_2 , na presença de elevadas concentrações de progesterona, bloqueiam as gonadotrofinas, suprimindo um eventual folículo dominante que pode levar à emergência de uma nova onda folicular (MARTINEZ *et al.*, 2000; BÓ *et al.*, 2004; CUTAIA *et al.*, 2004; CAVALIERI *et al.*, 2004; MADUREIRA *et al.*, 2009; MARQUES *et al.*, 2009).

O E_2 foi introduzido nos protocolos de sincronização de estros de curta exposição à progesterona com o intuito de aumentar o *feedback* negativo às gonadotrofinas, permitindo melhor sincronização da onda folicular (YAVAS & WALTON, 2000; BARROS *et al.*, 2004). A administração de E_2 , no início do protocolo de IATF, juntamente com a inserção do dispositivo de liberação lenta de progesterona,

inibe a secreção tanto de LH quanto de FSH por retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (CLARKE, 1988; MARTINEZ *et al.*, 2003).

Em uma investigação conduzida por Martinez *et al.* (2005), avaliando a administração de estradiol e progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com o implante vaginal CIDR, pode-se verificar a supressão na concentração plasmática das gonadotrofinas. A supressão da concentração de FSH persistiu durante o mesmo período em que as concentrações de estradiol se mantiveram elevados no sangue em vacas não-ovariectomizadas.

A administração de Benzoato de Estradiol (2mg), um éster de E₂, no momento da inserção do implante de P₄, causa a emergência de uma nova onda folicular de, em média, 4,3±0,2 dias (BÓ *et al.*, 1995) e é um dos protocolos mais utilizados para sincronização (MACMILLAN & BURKE, 1996; BÓ *et al.*, 2002).

Atualmente, vários compostos sintéticos que possuem as mesmas atividades biológicas dos estrógenos naturais foram desenvolvidos e têm sido frequentemente empregados em programas reprodutivos com a finalidade de acarretar sincronização das ondas foliculares, a ovulação do folículo dominante e a indução de estro. Os estrógenos mais utilizados com esta finalidade são o 17 β-estradiol (E₂) e os ésteres de estradiol, como o Benzoato de estradiol (BE), Valerato de estradiol (VE) e Cipionato de estradiol (CE). Todavia, somente a molécula de 17 β estradiol é biologicamente ativa. Os ésteres de estradiol (BE, VE e CE) precisam liberar o 17 β estradiol da sua estrutura por meio da ação da enzima esterase, no fígado.

A maior diferença entre esses compostos é a meia-vida após a administração. A duração da meia-vida é maior em ordem crescente: E₂, BE, VE e CE. A administração de uma única injeção de VE (5 mg) resulta na elevação da concentração plasmática de estradiol por um período de cinco a sete dias (BÓ *et al.*, 1993), sendo que uma única injeção de E₂ (5 mg) resulta na elevação plasmática de estradiol por apenas 42 horas (BÓ *et al.*, 1995). Todos os diferentes tipos de ésteres de estradiol, incluindo BE, VE e CE são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (BÓ *et al.*, 1995).

Colazo *et al.* (2003) ao procederem a análise comparativa entre CE, E₂ e BE, observaram que o CE foi menos eficaz em sincronizar a emergência da onda; sendo assim, o uso do CE, que apresenta concentrações plasmáticas por períodos superiores há 100 horas, tem sido desestimulado por apresentar resultados, em termos de sincronização da emergência de onda, menos previsíveis do que fármacos de ação mais

curta (MAPLETOFT *et al.*, 2000), como o 17 β estradiol (BÓ *et al.*, 1995) e o BE (SÁ FILHO *et al.*, 2011).

Como citado anteriormente, o mecanismo de retroalimentação positiva entre o E₂ e o LH é crítico no processo de maturação final do folículo ovulatório, induzindo o comportamento estral e a ovulação (FIKE *et al.*, 1997). Nesse sentido, alguns pesquisadores realizaram estudos visando à administração de E₂ para sincronizar e induzir a ovulação.

Vynckier *et al.* (1990) verificaram que entre 16 a 66 horas antes da ovulação as concentrações plasmáticas de estradiol variaram entre 11 e 28 pg/mL. Já Larson & Ball (1992) observaram que a administração intravenosa de 3 mg de 17 β estradiol promoveu concentrações plasmáticas de 50 pg/mL de estradiol 2 horas depois, com o retorno às concentrações basais 6 horas após o tratamento. Burke *et al.* (2000) verificaram que 1 mg de BE via intramuscular promove um rápido aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol, atingindo a concentração máxima de 12,6 pg/mL quatro horas após e permanecendo elevada (12 pg/mL) por 24 horas.

Contudo, em estudos realizados com CE, foi observado que este apresenta maior meia-vida quando comparado ao BE. Nessa perspectiva, Lopes (2000) verificou que 2mg de CE via intramuscular promoveram aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol (25 pg/mL) 12 horas após a aplicação e pico (33 pg/mL) 36 horas após a administração e permanecendo elevada por mais de 96 horas (15 pg/mL), sendo que o pico das concentrações de estradiol circulante depende do tipo de estrógeno administrado. Entende-se assim, que as características farmacocinéticas específicas dos diferentes ésteres de estradiol devem ser consideradas na determinação das estratégias que objetivem a sincronização do estro.

Estas diferenças promovem mudanças referentes ao protocolo de sincronização estabelecido (LOPEZ, 2005). Dessa maneira, os estrógenos de longa duração permitem o surgimento de uma onda folicular muito variável, e, ainda, estão ativos no momento de induzir a ovulação durante o protocolo de IATF; por isso o éster de estrógeno mais utilizado é o BE (ANDRADE *et al.*, 2002; COLAZO *et al.*, 2003).

2.3. Prostaglandina

As prostaglandinas (PG) são substâncias orgânicas, biologicamente ativas, com efeitos fisiológicos e farmacológicos no organismo muito potentes. Ocorrem

naturalmente em muitos tecidos e situações biológicas. Foram inicialmente encontradas na próstata (VON EULER, 1934 citado por Von Euler, 1973), e, por isso, o nome de prostaglandina, apesar da maior parte das prostaglandinas seminais se originar das glândulas vesiculares e não propriamente da próstata.

As PG, assim como os leucotrienos e tromboxanos, são moléculas derivadas dos ácidos araquidônico e linoleico (WEEMS, 2005). As ciclo-oxigenases convertem o ácido araquidônico em PGG₂ e PGH₂, e então, pela ação de sintases e redutases, são convertidas em PGs específicas.

Os efeitos das diferentes prostaglandinas (PGF_{2α}) na reprodução dos animais domésticos são amplos, podendo atuar no desenvolvimento folicular, na ovulação, na regressão luteal, na implantação e na manutenção da gestação, do parto e da fisiologia puerperal (WEEMS, 2005). A PGF_{2α} e seus análogos sintéticos são utilizados na sincronização do ciclo estral das fêmeas domésticas por sua ação luteolítica, que promove a vasoconstrição seguida de uma cascata apoptótica. Deste modo, a PGF_{2α} e seus análogos têm sido os agentes farmacológicos mais utilizados nos programas para sincronização do estro em fêmeas bovinas (ODDE, 1990) e podem ser utilizados unicamente ou em associação com outros hormônios (XU *et al.*, 1997; THATCHER *et al.*, 2002).

O sucesso do tratamento é dependente da presença de um CL, visto que, a ação da luteolisina é provocar a regressão morfológica e funcional dessa estrutura (RATHBONE *et al.*, 2001), e, conseqüentemente, há queda das concentrações endógenas de progesterona. Este fato é seguido por um aumento na secreção de gonadotrofinas e eventual ovulação. A queda nas concentrações de progesterona é rápida, assim, a fertilidade, nestes casos, equivale à de um estro espontâneo, uma vez que as concentrações hormonais (progesterona, estrógeno e LH) são basicamente as mesmas encontradas nos animais não tratados.

Nas fêmeas, com a lise do corpo lúteo, o estro aparece a intervalos de cinco ou mais dias, o que torna impraticável em programas de IATF (BÓ *et al.*, 2002). Esta variação no intervalo da aplicação da PGF_{2α} ao estro e a ovulação é decorrente do estado de desenvolvimento dos folículos no momento do tratamento (MARTINEZ *et al.*, 2003). Dessa forma, se o tratamento for realizado quando o folículo dominante está na fase final do seu crescimento, ou então no início da sua fase estática, a ovulação irá ocorrer dentro de dois a três dias. Por outro lado, se a PGF_{2α} for aplicada quando o folículo dominante estiver no meio ou no final da sua fase estática, a ovulação irá

ocorrer cinco a sete dias mais tarde, após o crescimento do folículo dominante da próxima onda folicular (KASTELIC & GINTHER, 1991). Neste contexto, é necessário lembrar que, tratamentos realizados até o dia 5 do ciclo estral (CL não maduro) não induzem efetivamente a luteólise (PARFET *et al.*, 1989).

De acordo com Wiltbank *et al.*(1975), existem algumas limitações para o emprego da prostaglandina. Primeiro, a não resposta do CL inicial ao tratamento com o hormônio, podendo ser solucionada aplicando-se uma segunda dose de PGF_{2α} com um intervalo que permita todas as fêmeas apresentarem um CL responsivo e funcional. O intervalo recomendado é de 10 a 14 dias. Segundo, a PGF_{2α} não induz o estro em vacas acíclicas. Em terceiro, as fêmeas manifestam estro em tempos variáveis, logo após o tratamento. Essa variabilidade no período de estro, como acima citada, é devida às diferenças entre fêmeas no crescimento folicular, e não às diferenças no período de regressão luteal.

Teoricamente, duas aplicações de prostaglandina, com intervalos de 11 a 14 dias, induzem o estro em grande parte das fêmeas ciclando, enquanto que fêmeas em anestro ou ciclando irregularmente não respondem ao tratamento. Nesse sentido, tais programas nem sempre proporcionam alto grau de sincronização ou alta taxa de prenhez (CAVALIERI *et al.*, 1997; BARROS, 2000).

Todavia, mesmo após a aplicação de 2 doses de PGF_{2α}, tem sido observada grande variação na detecção do estro e na ovulação, tanto em *Bos taurus*, quanto em *Bos indicus*. Este dado indica que o tratamento com PGF_{2α} sincroniza eficientemente o momento da luteólise e não o estágio de desenvolvimento do folículo ovulatório. Assim, protocolos para IATF, apenas com a utilização de prostaglandina, não têm apresentado bons resultados. Então, torna-se necessário, o emprego de métodos que controlem o desenvolvimento luteínico e folicular para sincronizar o crescimento dos folículos e a ovulação.

2.4. Hormônio Liberador de Gonadotropinas

O hormônio liberador de gonadotropinas (GnRH) é um decapeptídeo produzido no hipotálamo. Esse hormônio hipotalâmico é liberado de modo pulsátil, e, na fêmea, a sua frequência e amplitude variam durante os estágios reprodutivos nas diferentes espécies. A síntese e liberação do LH são muito mais responsivas ao GnRH do que a síntese e liberação do FSH (VALLE *et al.*, 1991; SANTOS, 2002).

A administração de GnRH eleva a concentração de LH na circulação periférica num período de 2 a 4 horas (TWAGIRAMUNGU *et al.*, 1995), promove a ovulação ou a luteinização do folículo dominante se este estiver em sua fase de crescimento ou no início de sua fase estática (MARTINEZ *et al.*, 2002), o que resulta na emergência de uma nova onda folicular.

Os protocolos de sincronização de estro que utilizam GnRH para iniciar uma nova onda de crescimento folicular, ou, principalmente, para promover a ovulação de um folículo dominante no momento da IA (ou antes), têm sido desenvolvidos para gado de corte e de leite. Nesse sentido, quando administrado em estágios aleatórios do ciclo estral, o GnRH pode estimular a ovulação do folículo dominante quando este apresenta mais de 9 mm, ou a atresia, quando é menor que 9 mm, podendo induzir a emergência de uma nova onda de crescimento folicular dentro de 2 a 3 e/ou 1 a 2 dias em vacas e novilhas, respectivamente, após o tratamento (BRAGANÇA *et al.*, 2007).

Da mesma forma, agonistas de GnRH induzem a ovulação ou a luteinização do folículo dominante presente no momento do tratamento (BARROS& ERENO, 2004). A aplicação de GnRH (100µg) promove a ovulação em cerca de 85-90% das vacas e 56% das novilhas (PURSLEY *et al.*, 1995).

Alterações na estrutura química da molécula natural do GnRH propiciam o desenvolvimento de potentes análogos (THATCHER *et al.*, 2002). Dentre os quais, se encontram a busserelina, a gonadorelina e o acetato de fertirelina. Os análogos estabilizam a molécula contra ataques enzimáticos, aumentam a ligação às membranas e proteínas plasmáticas, e aumentam a afinidade do agonista com o receptor do GnRH (THATCHER *et al.*, 1993) e, apresentam uma meia-vida maior na circulação. Desse modo, essas propriedades permitem que os análogos possam ser empregados em doses inferiores às da forma natural (D' OCCHIO *et al.*, 1990).

Neste sentido, tanto o acetato de busserelina como diacetato de gonadorelina são utilizados na sincronização de ondas foliculares e na seleção de folículos dominantes, em qualquer momento do ciclo estral e, também, para a sincronização da ovulação em protocolos de IATF (TWAGIRAMUNGU *et al.*, 1995).

Em bovinos, uma única dose de 100 µg de busserelina durante a fase folicular do ciclo estral pode estimular a ovulação no período entre 24 a 48 horas após a administração. Os principais usos deste hormônio, relacionados à sincronização de estro e à transferência de embriões (TE), são para induzir a ovulação. Os análogos do GnRH

também são utilizados no momento da inseminação para aumentar os índices de concepção.

Chenault (1990), avaliando as mudanças nas concentrações de FSH e LH plasmáticos, seguidas de várias doses de análogos de GnRH, entre si, a busserelina, gonadorelina e o acetato de fertirelina, concluíram que o acetato de fertirelina é 2,5 a 10 vezes mais potente que a gonadorelina; entretanto, a busserelina é aproximadamente 10 a 20 vezes mais potente que o acetato de fertirelina para a liberação de FSH e LH na espécie bovina.

O GnRH altera a distribuição folicular no ovário por aumentar o número de folículos de tamanho médio e diminuir os folículos maiores por luteinização ou atresia (TWAGIRAMUNGU *et al.*, 1995). Moreira *et al.* (2000) sugerem que a fase lútea, entre os dias 5 e 10 do ciclo estral, seja o momento ideal para o início de um programa de sincronização da ovulação que possua o GnRH como indutor de uma onda de crescimento folicular, pois, nessa fase, os folículos apresentam diâmetros de 10 a 13mm e tem capacidade para ovular.

Por outro lado, aplicações de GnRH, em fases tardias do ciclo (dia 15), podem não resultar em ovulação e formação de um corpo lúteo. Também ocorre que, a aplicação no início do ciclo (dia 2 ou 3), momento em que já houve a ovulação, o folículo no momento não possui diâmetro capaz de responder ao GnRH (<9mm). Além do mais, folículos dominantes menores apresentam um número menor de células da granulosa e um número menor de receptores para LH nessas células. Nestes casos, a ovulação induzida promoverá o desenvolvimento de corpo lúteo menor, com menor capacidade de secretar progesterona, o que influenciaria também na fertilidade (MACMILLAN *et al.*, 2003). Da mesma forma, existem fêmeas que mostram estro antes da aplicação da prostaglandina, provavelmente, não ficam prenhes após a IATF.

2.5. Gonadotropina Coriônica Equina

O hormônio gonadotrofina coriônica equina (eCG), também denominado gonadotrofina do soro de égua gestante (PMSG), é uma glicoproteína produzida pelos cálices endometriais de éguas, entre os 40 e 120 dias de gestação (GINTHER, 1979). Cole e Hart (1930) foram os primeiros a demonstrar a substância gonadotrópica no soro de égua prenhe.

Em relação a outros hormônios gonadotróficos, o eCG apresenta a singularidade de possuir atividade folículo estimulante e luteinizante na mesma molécula (PAPKOFF, 1974). Na égua, o eCG estimula a formação das glândulas luteais acessórias para auxiliarem na manutenção da gestação (GINTHER, 1996). Já nos bovinos, essa gonadotrofina apresenta longo tempo de ação, variando de 50 a 100 horas devido à proporção de ácido siálico (10 a 15%) presente na sua molécula (SCHAMS *et al.*, 1978).

Devido à sua dupla ação (como FSH e LH), a eCG atua estimulando de forma direta o desenvolvimento folicular e a ovulação. O implante de progesterona inibe a liberação destes pela hipófise, diminuindo o desenvolvimento folicular e a ovulação até o momento desejado. Com a retirada do implante, a concentração de progesterona sérica cai rapidamente e com isso, o animal apresenta estro. A administração de eCG, neste caso, estimula o desenvolvimento folicular e potencializa a ação sincronizante dos progestágenos. Isso se mostra importante frente ao diâmetro médio dos folículos no pós-parto apresentarem-se menores e sofrerem atresia antes de atingir o tamanho ideal para ovular (MURPHY *et al.*, 1990; YAVAS & WALTON, 2000).

Quando o eCG é aplicado antes da retirada do progestágeno e em doses baixas, o folículo dominante adquire maiores dimensões após suspensão do tratamento com progestágeno (LOGUÉRCIO, 2005). Este aumento de dimensões provavelmente leva à melhora dos índices de prenhez por estimular maior desenvolvimento do corpo lúteo.

A partir desses e outros estudos posteriores (KASTELIC, 1997) e, baseados ainda nas propriedades do eCG, tais como criar condições de crescimento folicular e de ovulação, percebe-se que esta substância passa a ser empregada em programas de sincronização e/ou indução de estros nas variadas espécies. O seu emprego tem-se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, como em fêmeas com período pós-parto inferior a 2 meses e/ou baixa condição corporal (BASTOS *et al.*, 2004; BARUSELLI *et al.*, 2004; DUFFY *et al.*, 2004), como também, em novilhas pré-púberes e púberes (LAROCCA, 1983; BRANDÃO & SILVA FILHO, 2005).

A adição de eCG no momento da remoção do implante de progesterona, utilizando diferentes progestágenos, é uma alternativa para aumentar taxas de prenhez em programas de IATF com vacas em anestro ou com baixas condições corporais (MACMILLAN & PETERSON, 1993; CAVALIERI *et al.*, 1997; BARUSELLI *et al.*, 2003; BÓ *et al.*, 2003; MARQUES *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2004; RODRIGUES *et al.*, 2004; BARUSELLI *et al.*, 2006; AYRES *et al.*, 2007;

ROSSA *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010a). Igualmente, novilhas da raça Nelore sincronizadas com o protocolo progesterona-estrógeno-prostaglandina-estrógeno (PEPE), associado ao eCG, apresentaram melhora nas taxas de prenhez: com eCG - 34,9% (68/195); sem eCG - 15,7% (31/197; MARQUES *et al.*, 2005).

Em animais com bom escore de condição corporal (ECC) este hormônio não leva à melhoria de índices reprodutivos, provavelmente devido à alta taxa de ciclicidade apresentada nestes casos, o que dispensa seu uso (BARUSELLI *et al.*, 2004; BARUSELLI *et al.*, 2006).

Além disso, outros pesquisadores como Marques *et al.*(2003) e Sá filho *et al.*(2010b) observaram que o tratamento com eCG no momento da remoção do dispositivo não interfere no intervalo até a ovulação. Esse relato é importante porque, visto que, uma diferença no intervalo ovulação-inseminação pode alterar as taxas de concepção (NEBEL *et al.*, 1994).

2.6. Somatotropina Bovina Recombinante (rbST)

A somatotrofina bovina recombinante (rbST) foi um dos primeiros fatores de crescimento produzidos em escala comercial com proteína recombinante (BAUMAN, 1999), com múltiplos efeitos no crescimento e diferenciação celular (GLUKMAN *et al.*, 1987). O primeiro estudo, em 1982, demonstrou que a aplicação de rbST resultava em aumento na produção de leite em vacas leiteiras (BAUMAN *et al.*, 1982), aumentando entre 10 a 15% na produção de leite (ETHERTON & BAUMAN, 1998). Em 1994, a rbST começou a ser comercializada para uso em vacas leiteiras e foi associada a uma fórmula de liberação lenta, que permitiu que as aplicações de rbST (Posilac 500 mg, Monsanto Co., St. Louis, Missouri) pudessem ser administradas a cada duas semanas, a partir do dia 60 da lactação, aproximadamente.

A rbST estimula a produção do hormônio do crescimento (GH) endógeno e do fator de crescimento, semelhante à insulina I (IGF-I; LUCY, 2000). A administração de rbST em animais sadios duplica as concentrações de IGF-1 no sangue (BAUMAN, 1999). Provavelmente, o aumento na produção de leite ocorre em resposta a essa elevação nas concentrações de IGF-I no sangue. Alguns efeitos importantes mediados pelo IGF-I são o aumento na proliferação celular (RECHLER & NISSLEY, 1990) e a potente inibição da apoptose (PERUZZI *et al.*, 1999) por vias endócrina, parácrina e autócrina.

A rbST é capaz, também, de atuar diretamente sobre Os órgãos reprodutores, pois no útero e nos ovários são observados receptores para rbST; entretanto, sem dúvida, entende-se que a maior influência do rbST na reprodução é indireta, via IGF-1 (LUCY, 2000).

Em novilhas e vacas europeias, no que se refere ao ovário, sobretudo no crescimento folicular (KIRBY *et al.*, 1997), o tratamento com rbST elevou o número de folículos pequenos (GONG *et al.* 1993; WEBB, 1994; GONG, 1996; KOZICKI, 2005), assim como, em novilhas da raça Nelore (BURATINI Jr. *et al.*, 2000). Essas alterações nos ovários são provavelmente a combinação do efeito direto da rbST e indireto do IGF-1 (KIRBY *et al.*, 1997; LUCY, 2001). Os IGFs exercem uma importante função no crescimento folicular por meio do estímulo à proliferação das células da granulosa, em sinergismo com as gonadotrofinas (GONG *et al.*, 1993; FORTUNE *et al.*, 2004; RIVERA & FORTUNE, 2004; YANG&RAJAMAHENDRAN, 2004). Desse modo, a aplicação de rbST induz ao aumento de IGF-1, e, conseqüentemente, altera o desenvolvimento folicular, possibilitando melhora no desenvolvimento das biotécnicas reprodutivas.

O corpo lúteo (CL) possui receptores para rbST (LUCY, 2000) e IGF-1 (PATE, 1996); assim a administração de rbST é capaz de acelerar o crescimento do CL e controlar as concentrações de progesterona produzidas (LUCY *et al.*, 1995). Waterman *et al.* (1993), relataram que vacas que recebem rbST têm CL mais pesado pelo aumento na produção de progesterona.

Este processo, de forma direta ou indireta, pode acelerar o crescimento do CL e a secreção de P₄ (LUCY *et al.*, 1995), além de estimular a atividade secretória das glândulas endometriais e aumentar o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (MOREIRA *et al.*, 2002).

No útero, o IGF-1 também pode regular a atividade secretória das glândulas endometriais, melhorando, por consequência, o ambiente uterino para manutenção da gestação (WATHES *et al.*, 1998), e aumentando o desenvolvimento e a sobrevivência embrionária (MOREIRA *et al.*, 2002).

Moreira *et al.* (2002) relataram que o rbST melhorou a taxa de prenhez quando administrado as receptoras no momento da inovulação, talvez em função da melhor produção de fluídos uterinos, visto que, as glândulas endometriais são ricas em receptores de IGF-1 e somatotropina.

A aplicação da rbST na inseminação em um protocolo Ovsynch foi eficiente em melhorar a fertilidade, aumentando as taxas de prenhez (MOREIRA *et al.*, 2000; MOREIRA *et al.*, 2001), fato também observado em protocolos Presynch (MOREIRA *et al.*, 2001) e que confirma a proposta de que a rbST estimula o desenvolvimento e a sobrevivência do embrião de vacas em lactação. Também, as taxas de prenhez aumentaram e as perdas embrionárias diminuíram em vacas que receberam rbST no mesmo dia da administração de GnRH, tanto no protocolo Ovsynch quanto no Selectsynch; independente se as vacas foram submetidas à IATF ou inseminadas após a observação do estro, respectivamente (SANTOS *et al.*, 2004).

Em um estudo feito no México (MORALES-ROURA *et al.*, 2001) com vacas submetidas a três ou mais IAs, sem sucesso, houve melhora nas taxas de prenhez quando a rbST foi administrada no estro e novamente 10 dias depois. As taxas de concepção foram de 29% em vacas tratadas com rbST *versus* 17% para as vacas controle. Assim, se evidencia a importância da rbST e/ou do IGF-I para melhorar a fertilidade, possivelmente por melhorar a sobrevivência e manutenção do embrião.

Em outro estudo, Moreira *et al.* (2002) relataram que o rbST ou IGF-1 parecem melhorar a capacidade de fertilização dos espermatozoides e a competência dos oócitos em serem fertilizados, melhorando, assim, a taxa de prenhez.

Nas amostras de endométrio coletadas nos dias 3 e 7 após a ovulação sincronizada de vacas leiteiras, que receberam aplicação de rbST, as concentrações da proteína PGHS-2 (um metabólito do PGF₂α) diminuíram quando comparadas com os controles não tratados (BALAGUER *et al.*, 2005).

Kolle *et al.* (1997) verificaram RNAm de receptores de GH em embriões. Sugerindo que o GH pode atuar junto com outros fatores de crescimento (IGF-I e IGF-II) para aumentar o desenvolvimento dos embriões pré-implantação (KAYE, 1997). Receptores de IGF-I podem ser encontrados em todos os estágios de embriões bovinos pré-implantação (YASEEN *et al.*, 2001). Como a administração de rbST eleva a taxa de desenvolvimento ao estágio de blastocisto e o número de células do embrião, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, pode, conseqüentemente, melhorar o desenvolvimento do conceito permitindo maior liberação de IFN-τ no dia 17 da gestação. O aumento no IFN-τ pode contribuir para um número maior de animais mantendo a gestação e menor com perda embrionária precoce.

Foram realizados estudos com vacas não lactantes (BILBY *et al.*, 2004) quanto lactantes (BILBY *et al.*, 2006 a,b,c) que avaliavam a utilização de rbST em protocolo de

IATF. Os animais que receberam rbST, apresentaram maiores tamanhos e concentrações de IFN- τ comparado com os animais controle (BILBY *et al.*, 2004; BILBY *et al.*, 2006 a,b,c). Esses aumentos foram na faixa de duas vezes no tamanho dos conceptos e de três vezes nas concentrações de IFN- τ . Esse crescimento embrionário avançado pode ter ocorrido por uma hiperestimulação das concentrações de IGF-I resultante da administração da rbST.

2.7. Flunixin Meglumine

O flunixin meglumine (FM) faz parte do grupo dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs). Estes possuem ação periférica (antiinflamatória, analgésica, antitrombótica e antiendotóxicas) e sobre o SNC (antipirética e analgésica). Tais ações se devem em parte à atividade inibitória que tais substâncias possuem sobre as enzimas que metabolizam o ácido araquidônico, a lipoxigenase e a cicloxigenase (COX). A ciclooxigenase possui duas isoformas (COX 1 e 2), estas enzimas têm como função catalisar e transformar o ácido araquidônico em prostaglandinas e os AINEs possuem a capacidade de inibir a atividade de ambas as enzimas (RADI e KHAN, 2006).

O conceito de utilização de anti-inflamatórios não esteroidais para inibir a síntese de prostaglandina não é novo. Odensvik *et al.* (1998) relataram que em novilhas, a luteólise e a expressão do estro podem ser adiadas pela administração de AINEs, visto serem capazes de inibir a síntese de PGF_{2 α} no endométrio, fato que pode favorecer a manutenção do corpo lúteo no período crítico de reconhecimento materno da gestação (BINELLI *et al.*, 2001).

Tratamento de fêmeas com FM (2,5 mg/ kg), a cada 8 horas, no dia 16 do ciclo estral, reduziu a proeminência dos pulsos de PGF_{2 α} detectados pelos picos de PGFM plasmático, durante a pré-luteólise e luteólise, atrasando assim, o início da redução das concentrações de progesterona (PUGLIESI *et al.*, 2012).

Outros pesquisadores também relataram esse efeito dos AINEs em retardarem a luteólise, havendo aumento no intervalo interestral, utilizando em suas pesquisas FM (ODENSVIK *et al.*, 1998; AKÉ-LÓPEZ *et al.*, 2005). Assim sendo, um maior desenvolvimento embrionário poderia ocorrer como consequência do prolongamento do ciclo estral, aumentando a secreção de IFN- τ o suficiente para induzir o reconhecimento da gestação (AKÉ-LÓPEZ *et al.*, 2005).

Nesse sentido, vacas submetidas à inseminação por tempo fixo são mais predispostas a fases luteais de curta duração, pois a ovulação induzida, muitas vezes, não permite que o útero seja exposto de modo adequado ao estrogênio no período pré-ovulatório, resultando em aumento da resposta uterina ao estímulo da ocitocina e em maior liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e luteólise e, conseqüentemente, maior reabsorção embrionária (MANN & LAMMING, 2000).

2.8. Suplementação parenteral com aminoácidos

Os aminoácidos são as unidades estruturais básicas das proteínas. São constituídos por um grupamento amina, uma carboxila, um átomo de hidrogênio e um radical R diferenciado, ligados a um átomo de carbono (STRAYER, 1992).

A aplicação de soluções de aminoácidos livres, obtida pela hidrólise ácida e enzimática de órgãos e glândulas de origem suína para aplicação parenteral, tem sido indicada em nutrição animal. As soluções de aminoácidos livres estimulam a retenção de nitrogênio com reflexo positivo no ganho de peso (CORRÊA *et al.*, 1998; CAMPOS NETO *et al.*, 2003).

Estes resultados confirmam os dados de Paffenholz & Theurer (1980), que evidenciaram o estímulo da síntese de DNA e RNA, além da proliferação celular, quando da aplicação parenteral do hidrolisado de órgãos e glândulas. Estudos realizados por Baldwin *et al.* (1994), descreveram a existência de fortes evidências indicando que os aminoácidos livres provenientes de uma fonte externa (hidrolisados de órgãos e glândulas) são diretamente direcionados para a síntese proteica, não se misturando com os aminoácidos intracelulares provenientes do *turnover* de proteínas preexistentes. Assim, reforçou-se a hipótese que a síntese de proteína, dos órgãos e glândulas que deram origem aos aminoácidos livres, é beneficiada devido à especificidade relativa entre si.

Nesta perspectiva, preconiza-se que a administração de suplemento injetável de aminoácidos derivados da hidrólise de órgãos e glândulas relacionadas à reprodução em fêmeas bovinas poderia estimular a eficiência das glândulas das quais foi feita a hidrólise, podendo levar a maior síntese e liberação de GnRH, FSH e LH (LITER, 1978; BALDWIN *et al.*, 1994).

Em seu estudo, Silva *et al.* (2008), comparando a aplicação de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos em vacas de alta produção verificou que os animais que

recebiam o suplemento apresentavam folículos dominantes de maior diâmetro e retorno ao estro mais precoce, o que demonstra a influência da suplementação no metabolismo do pós-parto. Norte *et al.* (2005) verificaram aumento de 10,5% de prenhez em vacas em anestro com a utilização deste suplemento. Assim, a suplementação com aminoácidos pode estimular a dinâmica folicular e minimizar o anestro pós-parto.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKÉ-LÓPEZ, R.; SEGURA-CORREA, J.C.; QUINTAL-FRANCO, J. Effect of flunixin meglumine on the corpus luteum and possible prevention of embryonic loss in Pelibuey ewes. **Small Ruminant Research**, v.59, p.83-87, 2005.
- ANDRADE, V.J. Manejo reprodutivo de fêmeas bovinos de corte. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 1., 1999, Viçosa, **Anais...** Viçosa. 2002.
- AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; CUNHA, A.P. *et al.* Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: Effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. **Theriogenology**, v.79, p.159–164, 2013.
- AYRES, H.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P. *et al.* Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós-parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35, n.3, p.113, 2007.
- AZEREDO, D.M.; ROCHA, D.C.; JOBIM, M.I.M. *et al.* Efeito da sincronização e da indução de estros em novilhas sobre a prenhez e o índice de repetição de crias na segunda estação reprodutiva. **Ciência Rural**, v.37, n.1, p.201-205, 2007.
- BALAGUER, S.A.; PERSHING, R.A., RODRIGUEZ-SALLABERRY, C. *et al.* Effects of bovine somatotropin on uterine genes related to the prostaglandin cascade in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.543-552, 2005.
- BALDWIN, R.L.; CALVERT, C.C.; HANIGAN, M.D.; *et al.* Modelling amino acid metabolism in ruminants. In: D’Mello, J.P.F. **Amino acids in farm animal nutrition**. Edinburg, UK.: Cab International, p.281-306, 1994.
- BARROS, C.M.; ERENO, R.L. Avanços em tratamentos hormonais para a inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (Supl), p. 23-34. 2004. BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A. *et al.* Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF_{2α} and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.53, n.5, p.1121-1134, 2000.

- BARUSELLI, P.S.; REIS E.L.; MARQUES, M.O. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82, p. 479 – 486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; ALENCA, R M.; BINELLI, M. *et al.* Estratégias hormonales para optimizar la función luteínica de vacas Nelore posterior a la sincronización del estro. Abstract presented at Anales del 12_ **Congreso Latinoamericano de Buiatria**; 7a Jornadas Chilenas de Buiatria, Valdivia, Osorno, Chile. 15 al 18 de Noviembre, 2005.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; CARVALHO, N.A.T. *et al.* eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION 14., 2004, Porto Seguro. **Proceedings....** v.1, p.117. 2006.
- BAUMAN, D.E.; DeGEETER, M.J.; PEEL, C.J. *et al.* Effect of recombinantly derived bovine growth hormone (bGH) on lactational performance of high yielding dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.121, 1982.
- BILBY, T.R.; GUZELOGLU, A.; MACLAREN, L.A.; *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: II. Endometrial Gene Expression Related to Maintenance of Pregnancy. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3375-3385, 2006b.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R. *et al.* Effects of bovine somatotropin (bST), pregnancy and a diet enriched in omega-3 fatty acids on endometrial gene expression at day 17 after ovulation in lactating dairy cows. **Biology of Reproduction**, v.278, 2004.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R. *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: III. Fatty Acid Distribution. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3375-3385, 2006a.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R. *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone-Insulin-Like Growth Factor System Responses. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3360-3374, 2006b.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R. *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: III. Fatty Acid Distribution. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3375-3385, 2006c.
- BINELLI M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R. *et al.* Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1451-1463, 2001.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.39, p.193–204, 1995.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, I.; BARUSELLI, P.S. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1º, 2004, São Paulo: FMZU - USP, p.56-80, 2004.

- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; NASSER, L.F. *et al.* Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v.40, p.225-239, 1993.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D. *et al.* The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72. 2002.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.
- BORGES, L.F.K.; FERREIRA, R.; SIQUEIRA, L.C. *et al.* Sistema para inseminação artificial sem observação de estro em vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.496-501, 2009.
- BRAGANÇA, J.F.M.; GONÇALVES, P.B.D.; BASTOS, G.M. *et al.* Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.28, p.73-77, 2007.
- BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. Indução do estro no pós-parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.476-484, 2005.
- BURATINI Jr., J.; PRICE, C.A.; VISINTIN, J.A. *et al.* Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v.54, p.421-43, 2000.
- BURKE, C.R.; DAY, M.L.; BUNT, C.R. *et al.* Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. **Journal of Animal Science**, v.78, p.145-151, 2000.
- CAMPOS NETO, O.; SCALZO, A.L.; CÔRREA, I. *et al.* Avaliação do suplemento de aminoácidos injetável (Aminofort), no desempenho de novilhas da raça nelore. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.1, 2003.
- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E. *et al.* Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.14, p.847-801, 1997.
- CAVESTANY, D.; BETANCOUR, H.; BLANC, J.E. *et al.* Reproductive efficiency in grazing lactating dairy cows under a programmed reproductive management system. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.85, p.141-147, 2007.
- CHENAULT, J.R. LH and FSH of Holstein heifers to Fertirelin acetate, Gonadorelin and Buserelin. **Theriogenology**, v.34, n.1, p.81-98, 1990.
- CHRISTIAN. R.E; CASIDA.L.E. The effect of progesterone in altering the oestral cycle of the cow. **Jornal of Animal Science.**, v.7, p.540, 1948.
- CLARKE, J.J. GnRH secretion. In: International Congress On Animal Reproduction and Artificial Insemination, 5, 1988, Dublin. **Anais...Dublin**, p.1-9, 1988.

- 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.
- COLE, H.H; HART, G.H. Potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. **American Journal Physiology**, v.93, n.1, p.57-58, 1930.
- CORRÊA, M.G.P.; CORRÊA, I.; LEMOS, A.M. *et al.* Influência da suplementação com aminoácidos sobre ganho de peso em bovinos no período da entressafra. **Revisão do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.53, n.305, p.53-55, 1998.
- CUSTER E.E.; BEAL, W.E.; WILSON, S.J. *et al.* Effect of melengestrol acetate (MGA) or progesterone-releasing intravaginal device (PRID) on follicular development, concentrations of estradiol-17 β and progesterone, and LH release during an artificially lengthened bovine estrous cycle. **Journal of Animal Science**, v.72, p.1282-1289, 1994.
- D'OCCHIO, M.J.; NEISH, A.; BROADHURST, L. Differences in gonadotrophin secretion post-partum between zebu and European breed cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.22, p.311-317, 1990.
- DUFFY, P.; CROWE, M.A.; AUSTIN, E.J. *et al.* The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. **Theriogenology**, v.61, p.725-734, 2004.
- ETHERTON, T.D.; BAUMAN, D.E. Biology of somatotropin in growth and lactation of domestic animals. **Physiology Review**, v.78, p.745-761, 1998.
- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K. *et al.* Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2009-2015, 1997.
- FORTUNE, J.E.; RIVER, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal of Reproduction Science**, v.82, p.109-126, 2004.
- GINTHER, O.J. Influence of progesterone and number of corpora lutea on ovaries in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v.32, p.1987-1992, 1979.
- GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M. *et al.* Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, n.6, p.1187-1194, 1996.
- GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; WILMUT, I. *et al.* Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. **Biology of Reproduction**, v.48, p.1141-1149, 1993.
- GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A. *et al.* Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, p.611-622, 1996.
- GOTTSCHALL, C.S.; ALMEIDA, M.R.; TOLOTTI, F.; *et al.* Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos... **Acta Scientiae Veterinariae**.v.40, n.1, p. 1012.2012.

- GUTIÉRREZ-PASCUAL, E. Direct Pituitary Effects of Kisspeptin: Activation of Gonadotrophs and Somatotrophs and Stimulation of Luteinising Hormone and Growth Hormone Secretion. **Journal of Neuroendocrinology**, v.1, p.521-530. 2009.
- HERLIHY, M.M.; BERRY, D.P.; CROWE, M.A. *et al.* Evaluation of protocols to synchronize estrus and ovulation in seasonal calving pasture-based dairy production systems. **Journal of Dairy Science**, v.94 p. 4488–501, 2011.
- KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal of Reproduction Science**, v.26, n.1-2, p.13-24, 1991.
- KAYE, P.L. Preimplantation growth factor physiology. **Review of Reproduction**, v.2, p.121-127, 1997.
- KESNER, J.S.; PADMANABHAN, V.; CONVEY, E.M. Estradiol induces and progesterone inhibits the preovulatory surges of luteinizing hormone and follicle stimulating hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v.26, p.571-578, 1982.
- KINDER J.E. Frequency of luteinizing hormone pulses and circulating 17 β -oestradiol concentration in cows is related to concentration of progesterone comes from Esther in endogenous or exogenous source. **Animal of Reproduction Science**, v.37, p.257-265, 1996.
- KIRBY, C.J.; SMITH, M.F.; KEISLER, D.H. *et al.* Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.273–285, 1997.
- KOLLE, S.; STOJKOVIC, M.; PRELLE, K. *et al.* Expression of growth hormone receptor and its transcript during bovine early embryonic development. **Reproduction in Domestic Animal**, v.32, p.51, 1997.
- KOZICKI, L.E. A somatotrofina bovina (bST) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. **Archives of Veterinary Science**, v.10, p.35-44, 2005.
- LARROCCA, C; MARTINEZ, Y.G. Induccion y sincronizacion del celo en novillas Siboney (5/8 H, 3/8 C) mediante bajas dosis de progesterona y PMSG. **Revista Cubana de Reproducción Animal**, v.9, n.2, p.7-13, 1983.
- LARSON, L.L.; BALL, P.J.H. Regulation of estrus cycle in dairy cattle: a review. **Theriogenology**, v.38, p.255-267, 1992.
- LITER, M. Farmacologia del metabolismo de las proteínas simples y de las nucleoproteínas. In: **Compêndio de Farmacologia**. Buenos Aires: El Ateneo. 705p., 1978.
- LOGUÉRCIO, R.S. Regulação de receptores esteróides e dinâmica folicular em um sistema de indução hormonal pós-parto em vacas de corte. 80f. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária), Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2005.
- LOPES, F. L.; ARNOLD, D.R.; WILLIAMS, J. *et al.* Use of estradiol cypionate for timed insemination. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.216, 2000.

- LOPEZ, J.P.S. Ovarian and hormonal events during synchronization of ovulation and timed appointment breeding of *Bos indicus*- influenced cattle using intravaginal progesterone, GnRH and prostaglandin F_{2α}. **Maste of Science**, Texas A&M University, 96p, 2005.
- LUCY, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1635-1647, 2000.
- LUCY, M.C. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1277-1293, 2001.
- LUCY, M.C.; THATCHER, W.W.; COLLIER, R.J. *et al.* Effects of somatotropin on the conceptus, uterus, and ovary during maternal recognition of pregnancy on cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.12, p.73-82, 1995.
- MACMILLAN, K.L.; PETERSON, A.J. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal of Reproduction Science**, v.33, p.1-25. 1993.
- MACMILLAN, K.L.; BRUKE, C.R. Effects of estrous cycle control of reproductive efficiency. **Animal of Reproduction Science**, v.42, n.1-2, p.307-320, 2003.
- MACMILLAN, K.L.; SEGWAGWE, B.V.E.; PINO, C.S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.78, p.327-344, 2003.
- MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O. **Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes**. 1.ed. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia / USP, v.1, p.89-98, 2009.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal of Reproduction Science**, v.64, p.171- 80, 2000.
- MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72, 2000.
- MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; SILVA, R.C.P. *et al.* Increased pregnancy rates in *Bos Taurus* × *Bos indicus* embryo recipients with treatments to increase plasma progesterone concentration. **Theriogenology**, v.59, p.369, 2005.
- MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; CAMPOS FILHO, E.P. *et al.* Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. In: **Proceedings 5 Simposio Internacional de Reproducción Animal**, Córdoba, Argentina; 2003. p. 392.
- MARQUES, M.O.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U. Efeito do tratamento com PGF_{2α} na inserção ou do eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. In: **Reunião Sociedade Brasileira de Reprodução Animal**, SBTE, p. 218, 2009.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BÓ, G.A. *et al.* Effects of oestradiol and some of this esters on gonadotrophin releasing and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.

- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. *et al.* The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v.57, p.1049–1059, 2002.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; COLAZO, M.G. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. *Domes anim.* **Endocrinologist**, v.33, p.77 – 90, 2003.
- MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179-189, 2009.
- MIHM, M.; AUSTIN, E.J. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2219–2226. 2002.
- MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONCALVES, P.B.D. *et al.* Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: GONCALVES, P.B.D; FIGUEIREDO, J.R; FREITAS, V.J. Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal. São Paulo: **Livraria Varela**, Cap.2, p.25-55, 2001.
- MORALES-ROURA, J.S.; ZARCO, L; HERNÁNDEZ-CERIÓN, H. *et al.* Effect of short-term treatment with bovine somatotropina at estrus on conception rate and luteal function of repeatbreeding dairy cows. **Theriogenology**, v.55, p.1831-1841, 2001.
- MOREIRA, F.; RISCO, C.A.; PIRES, M.F. *et al.* Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1237-1247, 2000.
- MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C.A. *et al.* Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1646–1659, 2001.
- MOREIRA, F.; PAULA-LOPES, F.F.; HANSEN, P.J. *et al.* Effect of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. **Theriogenology**, v.57, p.895-907, 2002.
- MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, n.2, p.523-533.1990.
- NASCIMENTO, V.A. **Inseminação artificial em tempo fixo e transferência de embriões na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas**. Tese (Departamento de Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG. 2009, 178p.
- NEBEL, R.L.; WALKER, W.L.; MCGILLIARD, M.L. *et al.* Timing of artificial insemination of dairy cows: fixed time once daily versus morning and afternoon. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3185–3191, 1994.
- NORTE, A.L.; NORTE, H.L.P.; CORRÊA, I. **Trabalho com Aminofort na fase de fertilidade na fazenda lagoa grande, município de Medeiros Neto – BA, 2005**. Disponível em: <http://www.vitafort.com.br/imgs/trabalho_campo/1158090342_TAC_Amino03.doc?PHPSESSID=86c89078305361c4b222a8be020fbabe>.
- ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, p.817-830, 1990.

- ODENSVIK, K.; GUSTAFSSON, H.; KINDAHL, H. The effect on luteolysis by intensive oral administration of flunixin granules in heifers. **Animal of Reproduction Science**, v.50, p.35-44, 1998.
- PAFFENHOLZ, V; THEARER, K. **A method of influencing cytoplasmic enzymes in cell cultures from patient with muscular dystrophy**. In: Duchenne's Disease Der Kassenart, Srmany, n.20, p.1-7, 1980.
- PAPKOFF, H. Chemical and properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.58, n.2, p.397-404, 1974.
- PARFET, J.R. Secretory patterns of LH and FSH and follicular growth following administration of PGF₂ α during the early luteal phase in cattle. **Theriogenology**, v.31, n.3, p.513-524, 1989.
- PATE, J.L. Intercellular communication in the bovine corpus luteum. **Theriogenology**, v.45, p.1381-1397, 1996.
- PEGORER, M.F.; ERENO, R.L.; SATRAPA, R.A. *et al.* Neither plasma progesterone concentrations nor exogenous eCG affects rates of ovulation or pregnancy in fixed-time artificial insemination (FTAI) protocols for puberal Nellore heifers. **Theriogenology**, v.75, p.17-23, 2011.
- PERUZZI, F.; PRISCO, M. DEWS, P. *et al.* Multiple signaling pathways of the insulin-like growth factor 1 receptor in protection from apoptosis. **Molecular Cell Biology**, v.19, p.7203-7215, 1999.
- PIMENTEL, C.A. Eficiência produtiva e reprodutiva em vacas leiteiras. **Ciência Hoje**, v.31, n.3, p.467-472. 2005.
- PUGLIESI, M.A.; BEG, M.A.; CARVALHO, G.R.*et al.* Effect of dose of estradiol-17 β on prominence of an induced 13,14-dihydro-15-keto-PGF₂ α (PGFM) pulse and relationship of prominence to progesterone, LH, and luteal blood flow in heifers. **Domestic Animal Endocrinology**, v.41, p.98-109, 2012.
- RADI, Z.A.; KHAN, N.K. Effects of cyclooxygenase inhibition on the gastrointestinal tract. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v.58, p.163-173. 2006.
- RATHBONE, M.J.; KINDER, J.E.; FIKE, K. *et al.* 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. **Advance Drug Delivery Reviews**, v.50, n.3, p.277-320, 2001.
- RECHLER, M.M.; NISSLEY, S.P. Insulin-like growth factors. **Handbook of Experimental Pharmacology**, v.95, p.263-281, 1990.
- REVAH, I.; BUTLER, W.R. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.106, n.1, p.39-47, 1996.
- RIBEIRO, E.S.; CERRI, R.L.A.; BISINOTTO, R.S. *et al.* Reproductive performance of grazing dairy cows following presynchronization and resynchronization protocols. **Journal of Dairy Science**. v.94, p. 4984-96, 2011.
- RIVERA, G.M.; FORTUNE, J.E. Proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins -4 and -5 in bovine follicular fluid: implications for ovarian follicular selection and dominance. **Endocrinology**, v.144, p.2977-2987, 2004.

- RODRIGUES C.A., AYRES, H.; REIS, E.L. *et al.* Aumento da taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com o uso de eCG em diferentes períodos pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (Suplemento), p.220, 2004.
- ROSSA, L.A.F.; BERTAN C.M.; ALMEIDA, A.B. *et al.* Efeito da eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.46, n.3, p.199-206, 2009.
- RUAS, J.R.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. Indução do estro no pós parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.476-484, 2008.
- SÁ FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, JR.S.; PENTEADO, L. *et al.* Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal of Reproduction Science**, v.118, p.182–187, 2010a.
- SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M. *et al.* Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p.651-658, 2010b.
- SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P.; FERREIRA, R.M. *et al.* Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**. v.76, p.455–463, 2011.
- SANTOS, M.D.; VASCONCELOS, J.L.M.; PEREZ, G.C. *et al.* Percentual de estro e taxa de gestação de vacas da raça Nelore sincronizadas com CIDR-B. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.3, p.308- 310, 2002.
- SCHAMS, S.; MENZER, C.H.; SCHALLENBERGER, E. *et al.* Some studies on pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle, **In: Control of Reproduction the Cow**. Commission of the European Communities, Luxembourg, p.25-80, 1978.
- SILVA, T.F.; NETO, G.S.R.; BARRETO FILHO, J.B. *et al.* Tamanho de folículo dominante e primeira ovulação pós-parto são influenciados por administração de aminoácidos e peptídeos de baixo peso molecular (Aminofort®) em vacas de alta produção. **Anais**, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras. 2008.
- SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.C.; LOGUÉRCIO, R.S. *et al.* Sistemas de inseminação artificial em dois dias ou em tempo fixo para vacas amamentando. **Ciência Rural**, v.38, n.2, p.411- 415. 2008.
- SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P. *et al.* Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v.75, p.722–33, 2011.
- STRAYER, L. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 3ª. Ed. 881p., 1992.
- STUMPF, T.T.; DAY, M.L.; WOLFE, M.W. *et al.* Effect of estradiol on luteinizing hormone secretion during the follicular phase of the bovine estrous cycle. **Biology of Reproduction**, v.41, p.91-99, 1989.

- THATCHER, W.W.; DROST, M.; SAVIO, J.D. *et al.* New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.33, p.27-49, 1993.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; PANCARCIA, S.M. *et al.* Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.243-254, 2002.
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; DUFOUR, J.J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.73, p.3141–3151, 1995.
- VALLE, E.R.; ENCARNAÇÃO, R.O.; PADOVANI, C.R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-681, 1991.
- VILELA, D. Cruzamento errado pode deteriorar a genética. **Noticiário Tortuga**, v.49, p.432, 2003.
- VON EULER, U.S. The First Heymans Memorial Lecture, Some aspects of the actions of prostaglandins. **Archives Internationales Pharmacodynamie Therapie**, p.295-307, 1973.
- VYNCKIER, L.; DEBACKERE, M.; KRUIF, A. *et al.* Plasma estradiol-17_β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17_β benzoate and estradiol-17_β cypionate - a preliminary study Plasma estradiol-17_β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17_β benzoate and estradiol-17_β cypionate—a preliminary study. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v.13, p.36–42, 1990.
- WATERMAN, D.F.; SILVIA, W.; HEMKEN, R.W. *et al.* Effect of bovine somatotropin on reproductive function in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.40, p.1015-1028, 1993.
- WATHES, D.C.; REYNOLDS, T.S.; ROBINSON, R.S. *et al.* Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1778–1789, 1998.
- WEBB, R.; GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A. *et al.* Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. **Theriogenology**, v.41, p.25-30, 1994.
- WEEMS, C.W.; WEEMS, Y.S.; RANDEL, R.D. Prostaglandins and reproduction in females farm animals. **The Veterinary Journal**, v.171, p.206-228, 2005.
- WILTBANK, M.C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of timed breeding programs. **Proceedings Annual Meeting Society For Theriogenology**, p.83-97, 1975.
- WOAD, D.G.; ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. **Domestic Animal Endocrinology**, v.5339, p.1-9, 2002.
- YANG, M.Y.; RAJAMAHENDRAN, R. Morphological and biochemical identification of apoptosis in small, medium, and large bovine follicles and the effects of follicle-stimulating hormone and insulin-like growth factor-1 on spontaneous apoptosis in cultured bovine granulosa cells. **Biology of Reproduction**, v.62, p.1209–1217, 2004.

- YASEEN, M.A.; WRENZYCKJ, C.; HERRMANN, D. *et al.* Changes in the relative abundance of mRNA transcripts for insulin-like growth factor (IGF-I and IGF-II) ligands and their receptors (IGF-IR/IGF-IIR) in preimplantation bovine embryos derived from different in vitro systems. **Reproduction**, v.122, p.601–610, 2001.
- YAVAS, Y; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.1-23, 2000.

Somatotropina recombinante bovina (rbST) em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)

Resumo: Objetivou-se, neste estudo, avaliar os efeitos da administração da somatotropina bovina recombinante (rbST) no momento da aplicação do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), quanto à dinâmica folicular e à taxa de prenhez em vacas mestiças cíclicas e em anestro. Utilizaram-se 346 vacas em dois experimentos com delineamento fatorial 2x2 simultâneos (ciclicidade das vacas e administração de rbST). A ciclicidade das vacas correspondeu às vacas cíclicas (Tcíclicas) e em anestro (Tanestro) e a administração de rbST (TrbST) ou não (Tcontrole). Tem-se, assim: 1) Tcontrole – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) associado à aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol; dia 8 (D8), retirada do DIP, aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α}, e 400 UI de eCG; dia 9 (D9), foi aplicado, IM, 1 mg de benzoato de estradiol; e no dia 10 (D10), a inseminação artificial (IA) foi realizada dentre de 52 horas após a retirada do DIP; 2) TrbST – similar ao Tcontrole, sendo aplicado adicionalmente 500 mg de rbST no D0. No experimento I, realizaram-se exames ultrassonográficos nos dias 0, 8, e na IATF até a determinação da ovulação das vacas submetidas aos tratamentos Tcíclicas/Tcontrole (n=10 vacas), Tanestro/Tcontrole (n=10 vacas), Tcíclicas/TrbST (n=10 vacas), Tanestro/TrbST (n=10 vacas). No experimento II, a avaliação da taxa de prenhez das vacas foi por tratamentos similares ao experimento I, diferindo pelo número de animais: Tcíclicas/Tcontrole (n=54), Tanestro/Tcontrole (n=36), Tcíclicas/TrbST (n=72) e Tanestro/TrbST (n=20). Os dados foram analisados em fatorial 2x2 a 5% de probabilidade. Não houve, todavia, efeito dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e da interação desses fatores com taxa de crescimento folicular, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (P>0,05). Também não ocorreu interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) com diâmetro do maior folículo (P>0,05). Não houve interação dos efeitos principais com taxa de ovulação (P>0,05), e não houve interação dos efeitos principais: administração de rbST e ciclicidade das vacas com taxa de prenhez (P>0,05). A taxa de prenhez foi de 53,7, 43,8, 46,5 e 51,2% para Tcíclicas, Tanestro, TrbST e Tcontrole, respectivamente. A taxa de prenhez nas vacas que receberam rbST foi menor para aquelas em anestro (35,3%) se comparada às cíclicas (56,8%; P<0,05). A administração de rbST não alterou os padrões de dinâmica folicular, nem a taxa de ovulação. Entretanto, as vacas em anestro, que receberam rbST, tiveram taxas de prenhez mais baixas que as vacas cíclicas.

Palavras-chave: biotecnologia, fertilidade, folículos, reprodução.

Recombinant bovine somatotropin (rbST) in synchronization of ovulation in crossbred dairy cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)

Abstract: This study was to evaluate the effects of the administration of recombinant bovine somatotropin (rbST) at the fixed-timed artificial insemination protocol (FTAI), on follicular dynamics and pregnancy rate in crossbred cyclic and anestrus cows. Three hundreds and forty six (346) cows were used in two experiments with simultaneous 2x2 factorial design (cyclic cows and rbST administration) as factors. The cyclic cows (Tcyclic) and the anestrus cows (Tanestrus) as factor 1 and the administration of rbST (TrbST) or not (Tcontrol) as factor 2. The protocol was as follow: 1) Tcontrol - day 0 (D0), insertion of a progesterone intravaginal device (PID) plus 2 mg of estradiol benzoate; day 8 (D8), PID with drawal, plus 0.150 mg of PGF2 α and 400 IU of eCG, day 9 (D9), 1 mg of estradiol benzoate; with AI at day 10 (D10, 52 hours after PID removal); 2) TrbST - similar to Tcontrol, plus 500 mg of rbST on D0. In the experiment I, ultrasound exams were performed on days 0, 8, and on FTAI until cows ovulation in all treatments: Tcyclic/Tcontrol (n=10 cows), Tanestrus/Tcontrol (n=10 cows), Tcyclic/TrbST (n=10 cows), Tanestrus/TrbST (n=10 cows). In the experiment II, the cows pregnancy evaluation rate were similar to the treatments of the experiment I, differing only by the number of animals (n): Tcyclic/Tcontrol (n=86), Tanestrus/Tcontrol (n=78), Tcyclic/TrbST (n=74), Tanestrus/TrbST (n=68). Data were analyzed with a 2x2 factorial 5% probability. There was no effect of synchronization protocols, the cyclicity of cows and the interaction between these factors for follicular growth rate and of the interval from progesterone device removal and from IATF to ovulation ($P>0.05$). No interaction between the evaluated effects (treatment, cyclicity, and day of observation) to the diameter of the largest follicle ($P>0.05$). There was no interaction of the main effects for the ovulation rate ($P>0.05$). There was no interaction of the main effects: the administration of rbST and the cyclicity of cows, for the pregnancy rate ($P>0.05$). The pregnancy rate was: 53.7, 43.8, 46.5 and 51.2% for Tcyclic, Tanestrus, TrbST and Tcontrol, respectively. The pregnancy rate in cows receiving rbST was lower for anestrus compared with cyclic cows ($P<0.05$). The administration of rbST did not alter the patterns of follicular dynamics, nor the ovulation rate. However, the cows in anestrus that received rbST had lower pregnancy rates than cyclic ones.

Keywords: biotechnology, fertility, follicle, reproduction

1. Introdução

A fertilidade pós-parto é muito influenciada pelo manejo nutricional no período seco e de transição. A duração do anestro pós-parto influencia o desempenho reprodutivo pela permanência de vacas subférteis e improdutivas nos rebanhos (NEVES *et al.*, 1999; YAVAS & WALTON, 2000). Entre as alternativas para melhorar os índices de fertilidade no pós-parto, há o uso de protocolos hormonais para induzir a ciclicidade e minimizar os efeitos ambientais e da amamentação.

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF), determinada pela sincronização da ovulação, tem aumentado expressivamente no Brasil devido às facilidades de realização dos programas de inseminação artificial (IA) a campo e da melhoria de seus resultados. Atualmente, os resultados encontrados após IATF estão similares aos da IA (AYRES *et al.*, 2013; COLAZO *et al.*, 2013).

O hormônio somatotropina recombinante bovina (rbST) é utilizado em vacas leiteiras para aumento da produção de leite, porém seus efeitos sobre a reprodução necessitam de mais estudos (ROSSETI *et al.*, 2011). Sabe-se que a rbST estimula a produção do hormônio do crescimento (GH) endógeno e do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I; LUCY, 2000), que são de extrema importância para a reprodução e adicionalmente foi observado receptores para rbST no útero e nos ovários (LUCY, 2000).

As alterações causadas pela administração da rbST são, provavelmente, a combinação do efeito direto deste e indireto do IGF-1 (KIRBY *et al.*, 1997; WILSON *et al.*, 1997; LUCY, 2001), assim GONG *et al.* (1993) e KOZICKI *et al.*, (2005) relataram que o tratamento com rbST elevou o número de folículos pequenos nos ovários, enquanto que, os IGFs exercem uma importante função no crescimento folicular pelo estímulo à proliferação das células da granulosa, em sinergismo com as gonadotrofinas (GONG *et al.*, 1993; FORTUNE *et al.*, 2004; RIVERA *et al.*, 2004; YANG, 2004).

Receptores para rbST e fator semelhante a insulina – 1 (IGF-1) estão também presentes nas glândulas do endométrio de bovino (WATHES *et al.*, 1998). É possível que um aumento na concentração de IGF-1 em resposta ao tratamento com rbST aumente a atividade secretória das glândulas endometriais, levando a um ambiente uterino mais favorável para o desenvolvimento do concepto, e assim facilitando a manutenção da gestação (MOREIRA *et al.*, 2002). Segundo Thatcher *et al.* (2006), a

administração de rbST é capaz de aumentar adicionalmente a secreção de IFN- τ pelo conceito.

A partir desta perspectiva, objetivou-se avaliar a administração de rbST em protocolos de IATF em vacas leiteiras mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) quanto à dinâmica folicular e à eficiência reprodutiva.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado nos meses de maio a outubro de 2012, em propriedade situada no Município de Dores do Rio Preto, Estado do Espírito Santo, nas coordenadas geográficas de 20°41' Sul, 41°50' Oeste e 774 m de altitude. A propriedade localiza-se em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, com clima tropical de altitude onde a temperatura média anual é de 19,2 °C e a precipitação pluviométrica de 1.000 mm anuais.

Foram utilizadas 346 vacas lactantes mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), do primeiro ao quarto parto, que apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica, retenção de placenta e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico. O manejo das vacas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem composta principalmente de braquiarião (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu). O sal mineral e a água foram fornecidos *ad libitum* e suplementação com concentrado (22% de proteína bruta) na proporção de 1 Kg/ 3 L de leite.

Na inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (DIP), registrou-se o período pós-parto relativo ao dia do início do protocolo de IATF (dia 0); foram pesadas a produção de leite, as vacas (PV, kg) e determinado o escore de condição corporal (ECC; escala de 1 a 5), de acordo com a proposta por Edmonson *et al.* (1989). As vacas foram divididas uniformemente quanto à ordem de parto, produção de leite e CC entre os grupos. As vacas apresentaram peso corporal médio de 408,0 \pm 1,6 kg, escore de condição corporal médio de 2,4 \pm 0,0, paridade média de 2,3 \pm 0,2 e produção de leite média de 11,6 \pm 1,0 litros.

Foram realizados dois experimentos em delineamento fatorial 2 x 2 simultâneos (ciclicidade das vacas e administração de rbST). No experimento I, foram feitos os exames da dinâmica folicular, enquanto que, no experimento II, avaliada a eficiência

reprodutiva das fêmeas. A ciclicidade das vacas correspondeu às vacas cíclicas (Tcíclica) e em anestro (Tanestro) e a administração de rbST (TrbST) ou não (Tcontrole). A condição fisiológica das vacas foi determinada pela presença de corpo lúteo (vacas cíclicas) ou sua ausência (vacas em anestro) por exame ultrassonográfico e palpação retal sete dias antes e no início do protocolo de sincronização da ovulação.

No experimento I, as vacas cíclicas (n=20) e em anestro (n=20) foram distribuídas em dois grupos: 1) Tcontrole (n = 20 vacas) – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹ mais aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol²; dia 8 (D8), retirada do DIP e, aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α}³ e de 400 UI de eCG⁴; dia 9 (D9), aplicação, IM, de 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10 (D10), realizada a inseminação artificial (IA) 52 horas após a retirada do DIP (Figura 1); no experimento 2) TrbST (n = 20 vacas) – similar ao Tcontrole, sendo que no dia 0 foi injetado mais 500 mg de rbST⁵ (Figura 2). Assim, a distribuição das vacas foi 10, em cada um dos tratamentos: Tcíclica/Tcontrole, Tanestro/Tcontrole, Tcíclica/TrbST e Tanestro/TrbST, respectivamente.

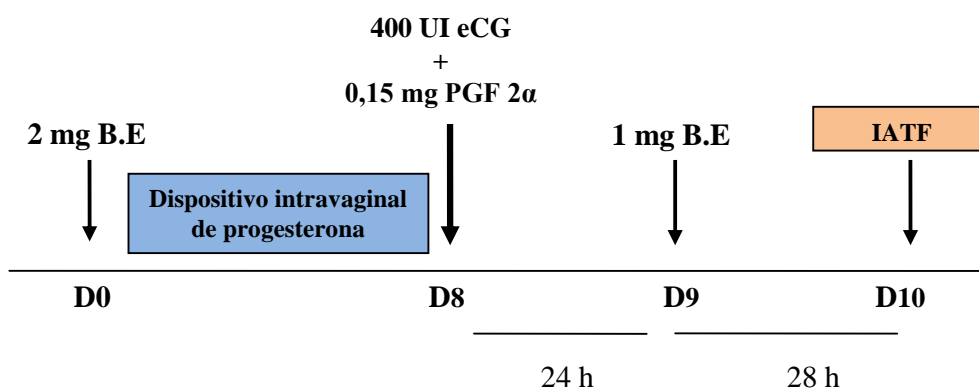


Figura 1 – Esquema ilustrativo do protocolo de sincronização do Tcontrole.

Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0 e 8 e no dia da IATF, sendo neste último dia, feito o acompanhamento da dinâmica folicular, com intervalo de 12 horas, até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante, com aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (MINDRAY[®], modelo DP2200 VET; Figura 3). Assim, foi verificado no D0 o *status* folicular, e nos demais dias avaliadas a dinâmica folicular e a taxa de ovulação. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro: pequenos (FP < 6 mm), médios

¹1,0 g de Progesterona, CRONIPRESS[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

²1 mg/mL Benzoato de Estradiol, BIOESTROGEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

³0,75 mg/mL d-Cloprostenol, CRONIBEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

⁴200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), NOVORMON 5000[®], Syntex S.A., Argentina.

⁵250 mg/mL de Somatotropina Bovina Recombinante, BOOSTIN[®] 500 MG, Coopers, Brasil.

(FM de 6 a 8 mm) e dominantes (FD > 8 mm). Calculou-se, então, a taxa de crescimento (mm/dia) pela diferença entre os diâmetros do folículo nos dias 10 e 8, dividido pelo número de dias.

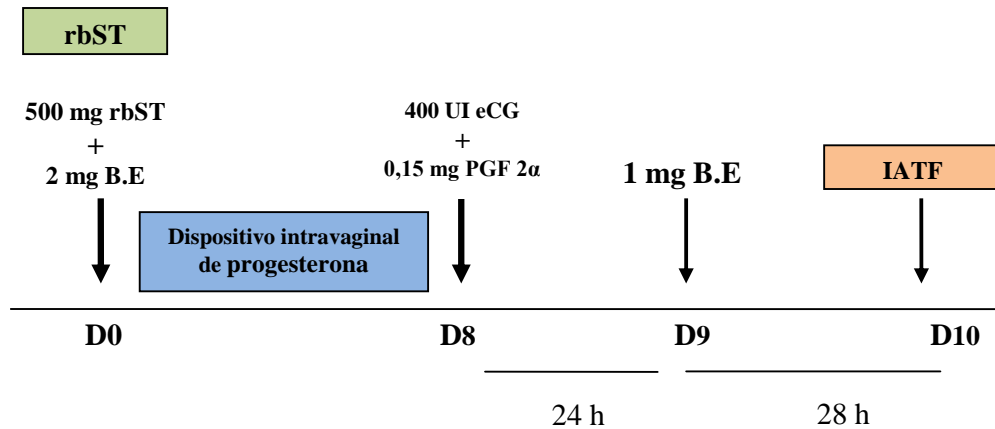


Figura 2 – Esquema ilustrativo do protocolo de sincronização do TrbST.

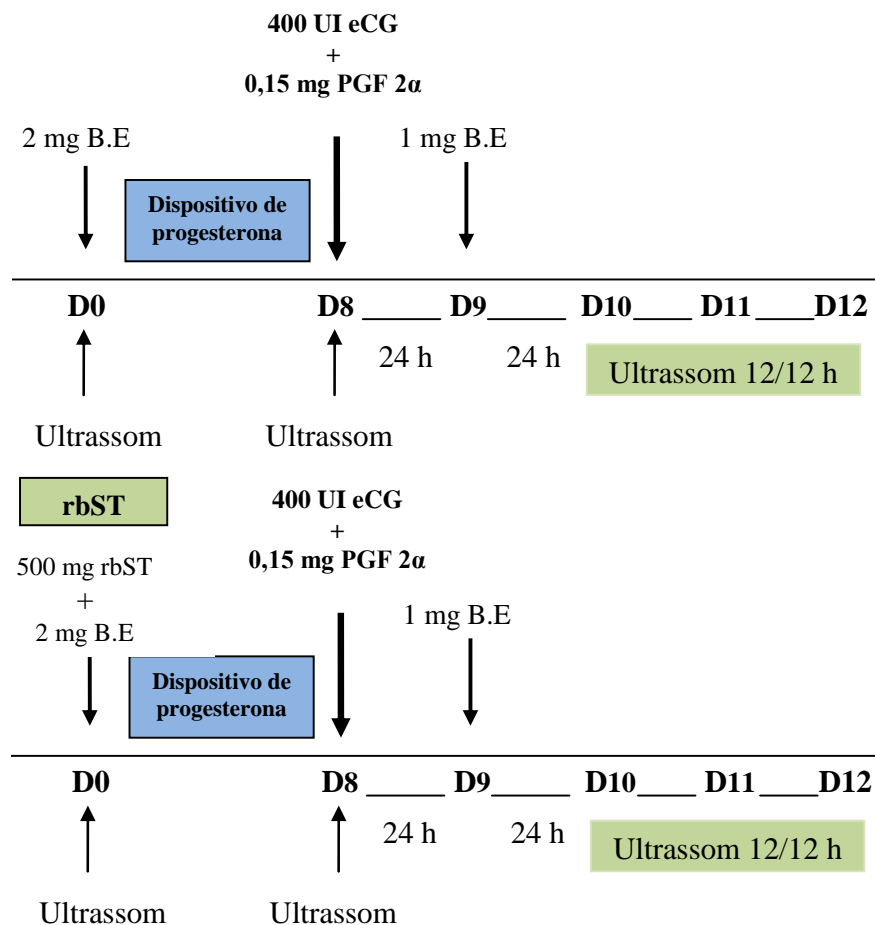


Figura 3 – Esquema dos cronogramas da realização dos exames ultrassonográficos nos tratamentos (Tcontrole e TrbST).

No experimento II, as vacas foram distribuídas uniformemente pela paridade, produção de leite, peso e condição corporal nos tratamentos propostos no experimento I: Tcíclica/Tcontrole (n = 86), Tanestro/Tcontrole (n = 78); Tcíclica/TrbST (n = 74); Tanestro/TrbST (n= 68).

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, que utilizou sêmen de touros da raça Girolando, de Central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial por exames ultrassonográficos, sendo determinada a taxa de prenhez de cada tratamento (número de vacas prenhes dividido pelo número total de vacas do tratamento).

Os dados paramétricos referentes ao número de folículos pequenos (< 6 mm), médios (6 a 8 mm), e grandes (> 8 mm), total de folículos e diâmetro do maior folículo, as taxas de crescimento folicular, de intervalo da retirada do implante de P4 à ovulação e da IATF à ovulação foram avaliados por ANOVA associada e as médias comparadas pelo teste de Tukey considerando os efeitos do tratamento, ciclicidade e dia da observação (0, 8 e 10) utilizando o PROC GLM (SAS, 2002).

Para avaliação do efeito do peso e condição corporal (CC) das fêmeas sobre as taxas de gestação foi realizada uma análise de regressão logística, utilizando software R (CORE TEAM, 2013).

Os dados de taxas de prenhes foram organizados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado (χ^2).

A significância adotada foi $\alpha = 0,05$.

3. Resultados e Discussão

Não houve interação do dia de observação e o tratamento, com o número de folículos e com a classificação folicular ($P > 0,05$; < 6 mm, 6 a 8 mm e >8 mm – Tabela 1), fato que corrobora os achados de Aleixo *et al.* (2005) e Nascimento (2009), que também não observaram influência do rbST nesse parâmetro em vacas leiteiras, *Bos taurus taurus* e *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*, respectivamente. Entretanto, em estudos prévios realizados em novilhas e vacas *Bos taurus taurus*, o tratamento com rbST elevou o número de folículos pequenos (GONG *et al.* 1993; DE LA SOTA *et al.*,

1993; WEBB *et al.*, 1994; GONG, 1996; KOZICKI *et al.*, 2005), assim como em novilhas *Bos taurus indicus* (BURATINI Jr. *et al.*, 2000).

Tabela 1 –Número de folículos < 6 mm, de 6-8 mm, e > 8 mm, nos dias 0, 8 e 10, em função dos diferentes tratamentos e da ciclicidade (Média ± erro-padrão da média)

| Item ¹ | Número de folículos | | | |
|--------------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| | < 6 mm | 6 a 8 mm | > 8 mm | Totais |
| TRATAMENTO² | | | | |
| Tcontrole | 10,1 ± 0,6 ^a | 0,4 ± 0,1 ^a | 0,9 ± 0,1 ^a | 11,4 ± 0,6 ^a |
| TrbST | 11,5 ± 0,7 ^a | 0,6 ± 0,1 ^a | 0,8 ± 0,1 ^a | 12,9 ± 0,7 ^a |
| CICLICIDADE² | | | | |
| Tcíclica | 10,4 ± 0,7 ^a | 0,5 ± 0,1 ^a | 0,9 ± 0,1 ^a | 11,9 ± 0,7 ^a |
| Tanestro | 11,2 ± 0,6 ^a | 0,4 ± 0,1 ^a | 0,8 ± 0,1 ^a | 12,4 ± 0,6 ^a |
| DIA³ | | | | |
| 0 | 9,8 ± 1,0 ^a | 0,5 ± 0,1 ^a | 0,4 ± 0,1 ^b | 10,7 ± 1,0 ^a |
| 8 | 11,3 ± 0,7 ^a | 0,6 ± 0,1 ^a | 1,1 ± 0,1 ^a | 13,0 ± 0,7 ^a |
| 10 | 11,3 ± 0,7 ^a | 0,3 ± 0,1 ^a | 1,1 ± 0,1 ^a | 12,7 ± 0,7 ^a |

¹Tcontrole = tratamento controle; TrbST = tratamento 500 mg de rbST; Tcíclica = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ²Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (P<0,05). ³Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Pode-se observar menor número de folículos > 8 mm no dia 0 em relação ao dia 8 e 10 (P<0,05). Assim, se evidencia que as condições fisiológicas proporcionadas pelo protocolo de sincronização à base de estradiol e progesterona em vacas cíclicas e em anestro proporcionaram aumento do número de folículos em crescimento devido ao fato de sincronizarem a emergência de uma nova onda folicular. Assim, entende-se que esses protocolos e outros citados na literatura apresentam efeitos satisfatórios para controlar a dinâmica folicular e luteal e para sincronizar a ovulação, permitindo IA sem a necessidade de detecção de estro (BÓ *et al.*, 2003; MACMILLAN *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009).

Observou-se também, que não houve efeito dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e da interação desses fatores com taxa de crescimento folicular, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (P>0,05; Tabela 2). Foi relatado anteriormente que a aplicação de rbST induz aumento de IGF-1, e, conseqüentemente, altera o desenvolvimento folicular, sobretudo no crescimento

folicular pela combinação do efeito direto da rbST e indireto do IGF-1 (KIRBY *et al.*, 1997; WILSON *et al.*, 1997; LUCY, 2001).

Tabela 2 –Taxa de crescimento folicular e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (média ± erro - padrão), em função dos protocolos de sincronização e da ciclicidade das vacas

| Item | Taxa de crescimento folicular (mm/dia) | Intervalo à ovulação | |
|--------------------------------|--|---|-------------------------|
| | | Retirada do dispositivo de progesterona (h) | IATF (h) |
| TRATAMENTO¹ | | | |
| Tcontrole | 1,4 ± 0,2 ^a | 64,6 ± 1,4 ^a | 12,6 ± 1,4 ^a |
| TrbST | 1,3 ± 0,3 ^a | 64,4 ± 1,4 ^a | 12,4 ± 1,4 ^a |
| Média | 1,3 ± 0,2 ^a | 64,5 ± 1,0 ^a | 12,5 ± 1,0 ^a |
| CICLICIDADE² | | | |
| Tcíclica | 1,4 ± 0,3 ^a | 64,9 ± 1,3 ^a | 12,9 ± 1,3 ^a |
| Tanestro | 1,3 ± 0,2 ^a | 64,0 ± 1,6 ^a | 12,0 ± 1,6 ^a |
| Média | 1,3 ± 0,2 ^a | 64,5 ± 1,0 ^a | 12,5 ± 1,0 ^a |

¹Tcontrole = tratamento controle; e TrbST = tratamento com 500 mg de rbST. ²Tcíclica = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro.

Os IGFs exercem uma importante função no crescimento folicular por estímulo à proliferação das células da granulosa, em sinergismo com as gonadotrofinas (GONG *et al.*, 1993; FORTUNE *et al.*, 2004; RIVERA *et al.*, 2004; YANG, 2004). Entretanto, neste estudo não foi observado efeito do rbST sobre o crescimento folicular.

Segundo Maraña *et al.* (2006), a administração de eCG no protocolo aumenta a taxa de crescimento folicular, pois melhora o desenvolvimento folicular ovariano por causa da sua atividade similar ao FSH e LH (MURPHY *et al.*, 1991). Nesta perspectiva, acredita-se que todos os tratamentos foram influenciados pelo eCG, pois a taxa de crescimento folicular encontrada neste estudo é semelhante às taxas encontradas nos estudos de Colazo & Ambrosea (2011) e Melo (2009) utilizando protocolos de sincronização da ovulação, que foram de 1,3 a 1,8 mm/dia em *Bos taurus taurus*, respectivamente. Em animais *Bos taurus indicus*, Borges *et al.* (2003) e Murta (2011) relataram crescimento de 1,4 mm/dia.

Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) com diâmetro do maior folículo (P>0,05; Tabela 3). O tratamento com rbST não aumentou o tamanho do folículo ovulatório 48 horas depois da retirada

do dispositivo de progesterona, ou seja, no dia 10, ocorrência que corrobora com pesquisas prévias (ALEIXO *et al.*, 2005; NASCIMENTO, 2009). Em um estudo com vacas Holandesas no Brasil, o diâmetro ovulatório foi maior no grupo tratado com rbST (18,2 mm) se comparado ao grupo controle (15 mm; KOZICKI *et al.*, 2005).

Tabela 3 –Diâmetro médio do maior folículo em função dos tratamentos e da ciclicidade das vacas nos dias 8 e 10 (média ± erro-padrão da média)

| Diâmetro (mm) do maior folículo | | | | | |
|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|
| Tratamento ¹ | | Ciclicidade ² | | Dia ³ | |
| Tcontrole | TrbST | Tcíclicas | Tanestro | 8 | 10 |
| 11,0 ± 0,6 ^a | 10,0 ± 0,8 ^a | 10,9 ± 0,6 ^a | 10,1 ± 0,8 ^a | 9,2± 0,6 ^b | 11,8± 0,7 ^a |

¹Tcontrole = tratamento controle; TrbST = tratamento com rbST; Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si (P<0,05); ²Tcíclicas = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro; ^{2,3}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si (P<0,05).

O diâmetro folicular mensurado no dia 10 (11,8 mm) foi eficaz em induzir a ovulação, visto que, 90,0% das vacas desse estudo ovularam, independente do tratamento e da ciclicidade (Figura 4). Assim, não houve interação dos efeitos principais com taxa de ovulação (P>0,05). Segundo Sartori *et al.* (2001), os folículos adquirem capacidade ovulatória com aproximadamente 10 mm de diâmetro, sendo assim, todos os tratamentos possuíam folículos no tamanho ovulatório. Na literatura recente, os valores do diâmetro do folículo ovulatório estão entre 11,7 e 16,0 mm (SÁ FILHO *et al.*, 2011; MURTA, 2011; GUMEN *et al.*, 2012; SALES *et al.*, 2012, COLAZO *et al.*, 2013).

Acreditava-se que a administração da rbST aumentaria a taxa de ovulação nos animais tratados pelos fatores já citados, como aumento da concentração plasmática de IGF-1. Todavia, a taxa de ovulação foi considerada como excelente em todos os tratamentos, dificultando a expressão do rbST quanto ao quesito de melhorar a taxa de ovulação. Os protocolos de sincronização da ovulação estão bem elucidados e eficientes quanto à indução da ovulação. Independente dos indutores de ovulação utilizados, as taxas de ovulação, estão situadas acima de 70% nas diferentes categorias (vacas ou novilhas), e nos diferentes padrões raciais (*Bos taurus taurus*, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*; CREPALDI, 2009; COLAZO& AMBROSEA, 2011; SÁ FILHO *et al.*, 2011; GUMEN *et al.*, 2012; SALES *et al.*, 2012; COLAZO *et al.*, 2013).

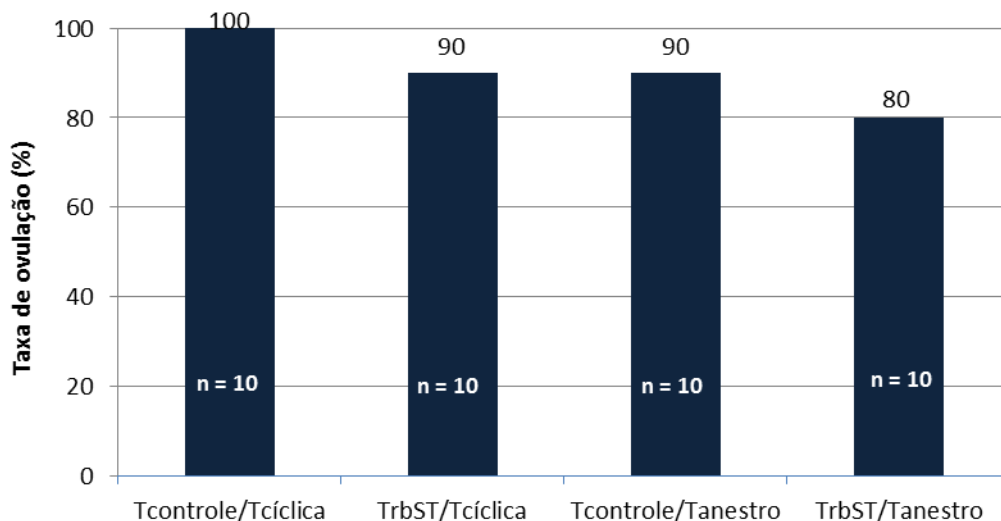


Figura 4 – Taxa de ovulação nos diferentes tratamentos ($P > 0,05$).

Não houve diferença entre os efeitos principais na taxa de prenhez ($P > 0,05$; Tabela 4). A taxa de prenhez total foi de 49,0% ($n = 306$). As vacas do TrbST, em anestro tiveram menor taxa de prenhez (35,3%) em comparação àquelas ciclando (56,8%; $P < 0,05$; Tabela 5).

Tabela 4 -Taxa de prenhez em função dos efeitos principais

| EFEITOS PRINCIPAIS | NÚMERO | PRENHEZ |
|--------------------|--------|----------------|
| Tcíclica | 160 | 53,7% (86/160) |
| Tanestro | 146 | 43,8% (64/146) |
| TrbST | 142 | 46,5% (66/142) |
| Tcontrole | 164 | 51,2% (84/164) |

Não houve diferença entre os efeitos principais ($P > 0,05$).

Tabela 5 -Taxa de prenhez, em função da ciclicidade e dos tratamentos.

| CICLICIDADE\TRATAMENTO | TrbST | Tcontrole |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Tcíclicas | 56,8% (42/74) ^{aA} | 51,2% (44/86) ^{aA} |
| Tanestro | 35,3% (24/68) ^{aB} | 51,3% (40/78) ^{aA} |

Letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem ($P > 0,05$). Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna diferem ($P < 0,05$).

A administração de rbST no dia do início do protocolo não proporcionou aumento na taxa de prenhez. Embora a dose de rbST utilizada fosse idêntica à utilizada nos estudos que mostraram um efeito positivo na taxa de prenhez (MOREIRA *et al.*, 2000; MORALES-ROURA *et al.*, 2001; MOREIRA *et al.*, 2001; MOREIRA *et al.*, 2002; BILBY *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2004; BILBY *et al.*, 2006a, b, c), a ausência de um efeito significativo no presente estudo pode ter sido devida ao dia do tratamento. É sabido que, com a administração de 500 mg de rbST, as concentrações plasmáticas de rbST e de IGF-1 ficam elevadas por 14 dias após a administração (BILBY *et al.*, 1999). Em todos os estudos citados, o rbST foi administrado no dia do estro, independente se foi estro natural ou sincronizado por protocolos de IATF. Porém, nesta pesquisa, o rbST foi administrado no dia do início do protocolo de IATF, ou seja, 10 dias antes do estro.

O IGF-1 é importante para a absorção de lipoproteínas e para esteroidogênese das células da granulosa e estimula a síntese de P₄ no corpo lúteo recém-formado (VELDHUIS *et al.*, 1986), além de que o aumento na concentração de IGF-1 em resposta ao tratamento com rbST aumenta a atividade secretória das glândulas endometriais, levando a um ambiente uterino mais favorável para o desenvolvimento do concepto e facilitando a manutenção da gestação (MOREIRA *et al.*, 2002). Assim, possivelmente administração do rbST durante a fase pré-ovulatória e inicial do desenvolvimento embrionário foi mais eficaz em aumentar a taxa de gestação quando comparada a administração durante o início do desenvolvimento folicular, carecendo de mais estudos.

A rbST tem sido associada à maior taxa de crescimento do concepto, e, conseqüentemente, ao aumento na taxa de prenhez (MOREIRA *et al.*, 2002; SANTOS *et al.*, 2004; BILBY *et al.*, 2006). De fato, em gado leiteiro o tratamento com rbST aumentou a concentração de IFN- τ nas secreções uterinas (BILBY *et al.*, 2004; BILBY *et al.*, 2006 a,b,c; THATCHER *et al.*, 2006), havendo correlação positiva do tamanho do concepto e a quantidade de IFN τ produzida pelo mesmo, um potente inibidor da síntese PGF_{2 α} , secretado pelo embrião durante o reconhecimento materno da gestação (MANN & LAMMING, 2000). De igual modo, conceptos menores secretam menor quantidade de IFN- τ , o que está correlacionado com maiores taxas de perdas embrionárias. Acrescenta-se, ainda, que em vacas lactantes que possuem baixa concentração de IGF-1 em decorrência da lactação, a rbST pode resultar em incrementos na concentração de IGF-1, corrigindo, assim, um desequilíbrio endócrino e metabólico (THATCHER *et al.*, 2006).

De acordo com literatura, em alguns estudos não foi observado o efeito da rbST sobre a taxa de prenhez total (BELL *et al.*, 2008; JOUSAN *et al.*, 2007; NASCIMENTO, 2009; ROSSETI *et al.*, 2011), ou até mesmo efeito negativo da rbST sobre a reprodução, onde vacas em lactação tratadas com rbST tinham redução nas taxas de concepção (DOWNER *et al.*, 1993; LUNA-DOMINGUEZ *et al.*, 2000), redução nas taxas de prenhez (COLE *et al.*, 1991; ESTEBAN *et al.*, 1994), aumento na incidência de ovários císticos, aumento no número de dias até a primeira inseminação (ESTEBAN *et al.*, 1994), aumento no número de dias em anestro (BURTON *et al.*, 1990; WATERMAN *et al.*, 1993; ESTEBAN *et al.*, 1994) e aumento no número de serviços por concepção (BURTON *et al.*, 1990; COLE *et al.*, 1991; SANTOS *et al.*, 2000).

Entretanto, Lucy (2000) não encontrou efeitos negativos inerentes à aplicação do rbST na reprodução dos animais. Esta é mais influenciada pelo aumento da produção de leite e pelo balanço energético negativo no pós-parto. Dessa forma, quando vacas leiteiras são submetidas ao tratamento com rbST, espera-se máxima resposta produtiva e nenhuma alteração nos índices reprodutivos. As condições para a obtenção destes resultados dependem da habilidade dos especialistas em avaliar o estado nutricional e alimentar dos animais, para que seja proporcionado consumo adequado de nutrientes que sustentem as atividades produtiva e reprodutiva (COLE & LUCY, 1997; LUCY, 2001; ARNONE, 2008).

Animais mantidos em regiões tropicais apresentam comprometimento na atividade ovariana pós-parto, decorrente do inadequado conteúdo energético fornecido pelas pastagens. Dessa maneira, a energia ingerida pelo animal é priorizada para funções vitais de manutenção e de produção de leite em detrimento das funções reprodutivas (MONTIEL & AHUJA, 2005). Os efeitos resultantes do comprometimento nutricional são a supressão na liberação de GnRH, e, conseqüentemente, a diminuição na frequência dos pulsos de LH (SCHILLO, 1992), que prejudica o sistema reprodutivo num todo (RHODES *et al.*, 1995; WILTBANK *et al.*, 2002). No presente estudo, as fêmeas em anestro provavelmente estavam em pior estado nutricional, e, com a administração da rbST, o requerimento nutricional dessas fêmeas aumentou, mesmo não sendo oferecido aporte nutricional adequado, o que acarretou uma diminuição da taxa de gestação nesses animais.

Adicionalmente, não foi detectada influencia da condição corporal (ECC) sobre a taxa de prenhez ($P > 0,05$; Figura 5). Estudos prévios encontraram que, com o aumento da condição corporal, há aumento na taxa de prenhez em vacas *Bos taurus taurus*

(HILLEGASS *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009; GOTTSCHALL *et al.*, 2012) e *Bos taurus indicus* (MENEGHETTI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2009). Neste estudo, todos os animais receberam 400 UI de eCG na retirada do dispositivo; sendo assim, é sabido que o eCG fornece suporte gonadotrófico para o desenvolvimento folicular final (SÁ FILHO *et al.*, 2010a; SÁ FILHO *et al.*, 2010b), sendo eficaz em aumentar a taxa de crescimento do folículo dominante, o diâmetro do folículo dominante na IATF, e a taxa de ovulação dessas vacas submetidas a protocolos (BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009) e as concentrações de P₄ durante o diestro posterior (MARQUES *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.* 2010a; SÁ FILHO *et al.*, 2010c), sendo eficaz em aumentar as taxas de prenhez, principalmente em animais em anestro, de baixa condição corporal, e com poucos dias no pós-parto (CAVALIERI *et al.*, 1997; MARQUES *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2006; BARUSELLI *et al.*, 2006; AYRES *et al.*, 2007; ROSSA *et al.*, 2009).

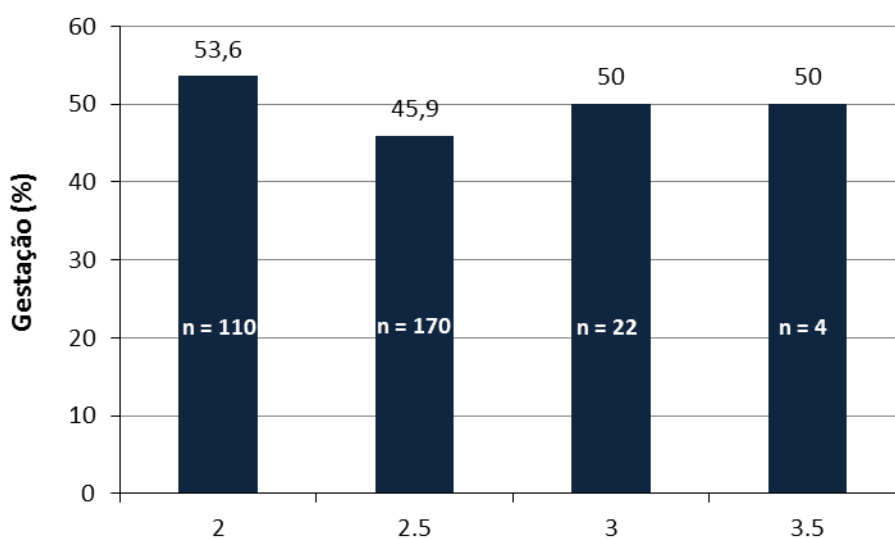


Figura 5 –Taxa de prenhez das vacas mestiças em função da condição corporal no início do protocolo de IATF (P>0,05).

A soma desses efeitos positivos beneficiou as vacas em anestro nesse experimento, que é altamente correlacionado com a baixa condição corporal (BARUSELLI *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; AYRES *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2011; ROSSA *et al.*, 2009), não diferindo a taxa de prenhez entre as diferentes condições corporais.

Os resultados obtidos são influenciados por diversos fatores, como exemplo, a dose utilizada da rbST e temperatura, tempo de lactação, e, principalmente balanço de

energia, que afetam diretamente a reprodução em vacas leiteiras - o que não é citado na maioria dos trabalhos. Nesta perspectiva, os fatores que podem influenciar a resposta do animal frente à administração da rbST devem ser levados em consideração no momento em que for usada como ferramenta para melhorar a produção de leite e a reprodução.

4. Conclusão

A administração de rbST em protocolo de sincronização de ovulação em vacas mestiças não apresentou diferenças nos padrões avaliados de dinâmica folicular. A taxa de prenhez foi satisfatória; porém, dentre as vacas que receberam rbST, as vacas em anestro apresentaram menor taxa de prenhez.

5. Referências Bibliográficas

- ALEIXO, M.A.; KOZICKI, L.E.; WEISS, R.R. *et al.* A somatotropina recombinante bovina (bST) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.2, p.19-27, 2005.
- ARNONE, B. Caracterização morfológica da divergência folicular em vacas da raça Tabapuã (*Bos taurus indicus*) tratadas com somatotrofina bovina. **Dissertação de mestrado**, UNOESTE, Presidente Prudente-SP, 51f. 2008.
- AYRES, H.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P. *et al.* Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.3, p.113, 2007.
- AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; CUNHA, A.P. *et al.* Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: Effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. **Theriogenology**, v.79, p.159–164, 2013.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER L.F. *et al.* Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with cidr-b devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v.59, n.1, p.214, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; REIS E.L.; MARQUES, M.O. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal of Reproduction Science**, v.82, p.479 – 486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T. *et al.* eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION 14., 2004, Porto Seguro. **Proceedings....** v.1, p.117. 2006.

- BELL, A.; RODRIGUEZ, O.A.; CASTRO, E.P.L.A. *et al.*. Pregnancy success of lactating Holstein cows after a single administration of a sustained release formulation of recombinant bovine somatotropin. **BMC Veterinary Research**, v.22, 2008.
- BILBY, C.R.; BADER, J.F.; SALFEN, B.E. *et al.* Plasma GH, IGF-I, and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. **Theriogenology**, v.51, p.1285–96, 1999.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R. *et al.* Effects of bovine somatotropin (bST), pregnancy and a diet enriched in omega-3 fatty acids on endometrial gene expression at day 17 after ovulation in lactating dairy cows. **Biology of Reproduction** (special issue), v.278, 2004.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R.; *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: III. Fatty Acid Distribution. **Journal Dairy Science**, v.89, p.3375-3385, 2006a.
- BILBY, T.R.; GUZELOGLU, A.; MACLAREN, L.A. *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: II. Endometrial Gene Expression Related to Maintenance of Pregnancy. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3375-3385, 2006b.
- BILBY, T.R.; JENKINS, T.; STAPLES, C.R. *et al.* Pregnancy, Bovine Somatotropin, and Dietary n-3 Fatty Acids in Lactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Growth Hormone-Insulin-Like Growth Factor System Responses. **Journal of Dairy Science**, v.89, p.3360-3374, 2006c.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.39, p.193–204, 1995.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.
- BÓ G.A.; CUTAIA, L.; SOUZA, A.H.; *et al.* Systematic reproductive management in dairy herds. Christchurch: **Proceedings New Zealand Veterinary Association**, 2007.
- BORGES, A. M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; *et al.* Características da dinâmica folicular e regressão luteal de vacas das raças Gir e Nelore após tratamento com cloprostenol sódico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.1, p.85-92, 2003
- BURATINI Jr., J.; PRICE, C.A.; VISINTIN, J.A. *et al.* Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v.54, p.421-43, 2000.
- BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E. *et al.* Day, effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrous and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal of Reproduction Science**, v.66, p.161–174, 2001.
- BURTON, J.H.; MACLEOD, G.K.; MCBRIDE, B.W. *et al.* Overall efficacy of chronically administered recombinant bovine somatotropin to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2157-2167, 1990.

- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E. *et al.* Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.14, p.847:801, 1997.
- COLAZO, M.G.; AMBROSEA, D.J. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. **Theriogenology**, v.76, p. 578–588, 2011.
- COLAZO, M.G.; DOUREY, A.; RAJAMAHENDRAN, R. *et al.* Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.79, p. 833–841, 2013.
- COLE, W.J.; LUCY, M.C. Management of reproduction in dairy herds utilizing bovine somatotropin. In: YOUNGQUIST, R.S. (Ed.). **Current therapy in large animal theriogenology**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997, p.473-478, 1997.
- COLE, W.J.; MADSEN, K.S.; HINTZ, R.L. *et al.* Effects of recombinantly derived bovine somatotropin on reproductive performance of dairy cattle. **Theriogenology**, v.36, p.573-595, 1991.
- RCORE TEAM. A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.2013.
- CREPALDI G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. São Paulo 2009. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária. 88p. 2009.
- DE LA SOTA, R.L.; LUCY, M.C.; STAPLES, C.R. *et al.* Effect of recombinant bovine somatotropin (sometribove) on ovarian function in lactating and nonlactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 1002-1013, 1993.
- DOWNER, J.V.; PATTERSON, D.L.; ROCK, D.W. *et al.* Dose titration of sustained-release recombinant bovine somatotropin in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.111-123, 1993.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- ESTEBAN, E.; KASS, P.H.; WEAVER, L.D. *et al.* Reproductive performance in high producing dairy cows treated with recombinant bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v.77, p.3371-3381, 1994.
- FORTUNE, J.E.; RIVER, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal of Reproduction Science**, v.82, p.109–126, 2004.
- GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; WILMUT, I. *et al.* Effect of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. **Biology of Reproduction**, v.48, p.1141-1149, 1993.
- GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A. *et al.* Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, p.611-622, 1996.

- GOTTSCHALL, C.S.; ALMEIDA, M.R.; TOLOTTI, F. *et al.* Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.1, p.1012.2012.
- GUMEN, A.; KESKIN, A.; YILMAZBAS-MECITOGU, G. *et al.* Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.78, p.1830–1838, 2012.
- HILLEGASS, J.; LIMA, F.S.; SÁ FILHO, M.F. *et al.* Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, p.4226–37, 2008.
- JOUSAN, F.D.; PAULA, L.A.C.; BLOCK, J. *et al.* Fertility of lactating dairy cows administered recombinant bovine somatotropin during heat stress. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.341–51, 2007.
- KIRBY, C.J.; SMITH, M.F.; KEISLER, D.H. *et al.* Follicular function in lactating dairy cows treated with sustained release bovine somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.273–285, 1997.
- KOZICKI, L.E.; SEGUI, J.C.; FANTINI FILHO, F.R.A. *et al.* A somatotrofina bovina (bST) e sua relação com o recrutamento folicular ovariano durante o ciclo estral de vacas. **Archives of Veterinary Science**, v.10, p.35-44, 2005.
- LUCY, M.C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. **Journal Dairy Science**, v.83, p.1635-1647, 2000.
- LUCY, M.C. Reproductive loss in high producing dairy cattle: where will it end. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1277-1293, 2001.
- LUNA-DOMINGUEZ, J.E.; ENNS, R.M.; ARMSTRONG, A.R. *et al.* Reproductive performance of Holstein cows receiving somatotropin. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1451-1455, 2000.
- MACMILLAN, K.L.; SEGWAGWE, B.V.E.; PINO, C.S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.78, p.327– 44, 2003.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal of Reproduction Science**, v.64, p.171– 80, 2000.
- MARAÑA, D.; CUTAIA, L.; PERES, L. *et al.* Ovulation and pregnancy rates in postpartum *Bos indicus* cows treated with progesterone vaginal inserts and estradiol benzoate, with or without eCG and temporary weaning. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, p.116–117, 2006.
- MARQUES, M. O.; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S. *et al.* Increased pregnancy rates in *Bos taurus* × *Bos indicus* embryo recipients with treatments to increase plasma progesterone concentration. **Theriogenology**, v.59, p. 369. 2003.
- MELO, L.C. Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos da sincronização da ovulação. **Dissertação**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de veterinária. 41p., 2009.

- MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179-189, 2009.
- MONTIEL F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. **Animal of Reproduction Science**, v.85, p.1-26, 2005.
- MORALES-ROURA, J.S.; ZARCO, L; HERNÁNDEZ-CERIÓN, H. *et al.* Effect of short-term treatment with bovine somatotropina at estrus on conception rate and luteal function of repeat breeding dairy cows. **Theriogenology**, v.55, p.1831-1841, 2001.
- MOREIRA, F.; RISCO, C.A.; PIRES, M.F. *et al.* Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1237-1247, 2000.
- MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C.A; *et al.* Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.84, p.1646–1659, 2001.
- MOREIRA, F.; PAULA-LOPES, F.F.; HANSEN, P.J. *et al.* Effect of growth hormone and insulin-like growth factor-I on development of in vitro derived bovine embryos. **Theriogenology**, v.57, p.895-907, 2002.
- MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, L. *et al.* Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408, 2001.
- MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotrofin. **Endocrine Reviews**, v.12, p.27-44, 1991.
- MURTA, J.E.J. Controle farmacológico da onda folicular em vacas nelore associando acetato de melengestrol, prostaglandina e gonadorelina. **Tese**. Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.
- NASCIMENTO, V.A. **Inseminação artificial em tempo fixo e transferência de embriões na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas**. Tese (Departamento de Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG. 2009, 178p.
- NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, n.2, p.99-105, 1999.
- RHODES, F.M.; FITZPATRICK, L.A.; ENTWISTLE, K.W. Sequential changes in ovarian follicular dynamics in *Bos indicus* heifers before and after nutritional anoestrus. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.104, n.1, p.41-49, 1995.
- RIVERA, G.M.; FORTUNE, J.E. Proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins -4 and -5 in bovine follicular fluid: implications for ovarian follicular selection and dominance. **Endocrinology**, v.144, p.2977-2987, 2004.
- ROSSA, L.A.F.; BERTAN C.M.; ALMEIDA, A.B. *et al.* Efeito da eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 199-206. 2009.

- ROSSETTI, R.C.; PERDIGÃO, A.; MESQUITAC, F.S. *et al.* Effects of flunixin meglumine, recombinant bovine somatotropin and/or human chorionic gonadotropin on pregnancy rates in Nelore cows. **Theriogenology**, v.76, p.751-8, 2011.
- SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; AYRES, L.U. *et al.* Effect of oestradiol valerate or benzoate on induction of a new follicular wave emergence in *Bos indicus* cows and heifers treated with norgestomet auricular implant. **Reproduction Fertility and Development**, v.18, p. 289, 2006.
- SÁ FILHO, O.G.; GIROTTO, R.; ABE, E.K. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-218, 2009.
- SÁ FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; PENTEADO, L. *et al.* Equine chronic gonadotropin improves the efficacy of a progestin- based fixed-time artificial insemination protocol in Nellore (*Bos indicus*) heifers. **Animal of Reproduction Science**, v.118, p.182-7, 2010a.
- SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M. *et al.* Equine chronic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nellore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p.651-658, 2010b.
- SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.P. *et al.* Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cow. **Animal of Reproduction Science**, v.120, p.120-123, 2010c.
- SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P.; FERREIRA, R.M. *et al.* Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**, v.76, p.455-63, 2011.
- SALES, N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A. *et al.* Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, p.510-516, 2012.
- SANTOS, M.D.; VASCONCELOS, J.L.M.; PEREZ, G.C. *et al.* Effects of grain processing and bovine somatotropin on metabolism and ovarian activity of dairy cows during early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.83, p.1004-1015, 2000.
- SANTOS, J.E.P.; THATCHER, W.W.; CHEBEL, R.C. *et al.* The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs, **Animal of Reproduction Science**, v.82-83, p.513-535, 2004.
- SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk Factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal of Reproduction Science**, v.110, p.207-221, 2009.
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P. *et al.* Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.5, n.65, p.1403-1409, 2001.

- SAS: SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. **SAS Institute Inc.**, 2002.
- SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. **Journal of Animal Science**, v.70, p.1271-1282, 1992.
- SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A. *et al.* Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, n.1, p.10-21, 2009.
- SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P. *et al.* Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v.75, p.722–33, 2011.
- THATCHER, W.W.; BILBY, T.R.; BARTOLOME, J.A. *et al.* Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. **Theriogenology**, v.65, p.30-44, 2006.
- VELDHUIS, J.D.; NESTLER, J.E.; STRAUSS, J.F.; *et al.* Insulin regulates low density lipoprotein metabolism by swine granulosa cells. **Endocrinology**, v.118, p.2242–2253, 1986.
- WATERMAN, D.F.; SILVIA, W.; HEMKEN, R.W. *et al.* Effect of bovine somatotropin on reproductive function in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.40, p.1015-1028, 1993.
- WATHES, D.C.; REYNOLDS, T.S.; ROBINSON, R.S. *et al.* Role of the insulin-like growth factor system in uterine function and placental development in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1778–1789, 1998.
- WEBB, R.; GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A. *et al.* Role of growth hormone and intrafollicular peptides in follicle development in cattle. **Theriogenology**, v.41, p. 25-30, 1994.
- WILSON, J.M.; JONES, A.L.; MOORE, K. *et al.* Superovulation of cattle with a recombinant-DNA bovine follicle stimulating hormones. **Animal of Reproduction Science**. v.33, n.1-4, p.71-82, 1997.
- WILTBANK, M.C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.21–52, 2002.
- YANG, M.Y.; RAJAMAHENDRAN, R. Morphological and biochemical identification of apoptosis in small, medium, and large bovine follicles and the effects of follicle-stimulating hormone and insulin-like growth factor-1 on spontaneous apoptosis in cultured bovine granulosa cells. **Biology of Reproduction**, v.62, p.1209–1217, 2004.
- YAVAS, Y; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.1-23, 2000.

Suplemento injetável de aminoácidos e polipeptídeos em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)

Resumo: Objetivou-se avaliar os efeitos da administração injetável de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, do dia do parto até o momento da aplicação do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), quanto à dinâmica folicular e à taxa de prenhez em vacas mestiças cíclicas e em anestro. Utilizou-se 242 vacas em dois experimentos com delineamento fatorial 2x2 simultâneos (ciclicidade das vacas e administração de suplemento injetável). A ciclicidade das vacas correspondeu às vacas cíclicas (Tcíclicas) e em anestro (Tanestro) e à administração de suplemento (Tsupl) ou não (Tcontrole). Assim, tem-se: 1) Tcontrole – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) somada à aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol; dia 8 (D8), retirada do DIP e aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α}; dia 9 (D9), aplicação de (IM) 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10 (D10), a inseminação artificial (IA) foi realizada dentro de 52 horas após a retirada do DIP; 2) Tsupl – similar ao Tcontrole, tendo sido feito, previamente, 10 aplicações IM de 10 mL de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, com intervalo de uma semana entre si, e com término no dia da inserção do DIP. No experimento I, foi realizado exames ultrassonográficos nos dias 0, 8, e na IATF até a determinação da ovulação das vacas submetidas aos tratamentos Tcíclicas + Tcontrole (n=15 vacas), Tanestro + Tcontrole (n=15 vacas), Tcíclicas + Tsupl (n=15 vacas), Tanestro + Tsupl (n=15 vacas). No experimento II, a avaliação da taxa de prenhez das vacas foi por tratamentos similares ao experimento I, diferindo pelo número de animais: Tcíclicas + Tcontrole (n=54), Tanestro + Tcontrole (n=36), Tcíclicas + Tsupl (n=72), Tanestro + Tsupl (n=20). Os dados foram analisados em fatorial 2x2 a 5% de probabilidade de erro. Não houve efeito dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e da interação desses fatores com taxa de crescimento folicular, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (P>0,05). Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) com diâmetro do maior folículo (P>0,05). Não houve interação dos efeitos principais com taxa de ovulação (P>0,05). A taxa de prenhez foi afetada pela administração prévia de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos (P<0,05). A taxa de prenhez foi de 75,0% e 45,6% para Tsupl e Tcontrole, respectivamente. A taxa de prenhez foi maior para as vacas cíclicas (66,7%), em comparação àquelas em anestro (46,4%; P<0,05). A administração de suplemento não alterou os padrões de dinâmica folicular, nem a taxa de ovulação. Entretanto, foi eficiente em aumentar a taxa de prenhez das vacas cíclicas e em anestro, além de que as vacas cíclicas apresentaram maior taxa de prenhez.

Palavras-chave: biotecnologia, inseminação artificial em tempo fixo (IATF), progesterona, reprodução, fertilidade

Effects of amino acids and polypeptides supplementation on the protocol of ovulation synchronization of crossbred dairy cows (*Bos taurus indicus x Bos taurus*)

Abstract: This study aimed to evaluate the effects of administering injectable of amino acids and polypeptides supplement, since the day of birth until the moment of the application of the protocol of fixed-time artificial insemination (TAI), as the follicular dynamics and the pregnancy rate in crossbred cyclical cows and in anestrus. Two hundreds forty four (242) cows were used in two experiments with simultaneous 2x2 factorial delimitation (cyclicity of cows and administration of injectable supplement). The cyclicity of cows corresponded to cyclic cows (Tcyclic) and in anestrus (Tanestrus) and administration of supplement (Tsupl) or not (Tcontrol). 1) Tcontrol - day 0 (D0), insertion of progesterone intravaginal device (PID) more application IM of 2 mg of estradiol benzoate; day 8 (D8); withdrawal of PID and application, IM, of 0,150 mg of PGF2 α ; day 9 (D9), it was applied IM 1 mg of estradiol benzoate; day 10 (D10), the artificial insemination (AI) was performed between 52 hours after the removal of PID; 2) Tsupl – similar to the Tcontrol, being done previously, 10 applications, IM, of 10 ml of amino acids and polypeptides supplement, with one week interval between them, and ending on the day of insertion of PID. At experiment I, ultrasound examinations were performed on days 0, 8, and at TAI till the determination of the ovulation of the cows submitted to the treatments Tcyclic/Tcontrol (n=15 cows), Tanestrus/Tcontrol (n=15 cows), Tcyclic/Tsupl (n=15 cows), Tanestrus/Tsupl (n=15 cows). In the experiment II, the evaluation of pregnancy rate of cows was through similar treatments of the experiment I, differing by the number of animals: Tcyclic/Tcontrol (n=54), Tanestrus/Tcontrol (n=36), Tcyclic/Tsupl (n=72), Tanestrus/Tsupl (n=20). Data were analyzed with a 2x2 factorial 5% probability. There was no effect of synchronization protocols, the cyclicity of the cows and the interaction between these factors for the follicular growth rate, range of the removal of the device of progesterone and the IATF to ovulation ($P>0.05$). There was no interaction of the evaluated effects (treatment, cyclicity, day of observation) to the diameter of the largest follicle ($P>0.05$). There was no interaction of the main effects for the ovulation rate ($P>0.05$). The pregnancy rate suffered the influence of prior administration of polypeptides and amino acid supplement ($P<0.05$). The pregnancy rate was of 75.0 and 45.6% for Tsupl and Tcontrol, respectively. The pregnancy rate was higher for the cycling cows (66.7%) compared to the ones in anestrus (46.4%; $P<0.05$). The administration of supplement did not alter the patterns of follicular dynamics, nor the ovulation rate. However, it was effective in increasing the rate of pregnancy of cyclic cows and in anestrus, and the cyclic cows had higher pregnancy rate.

Keywords: biotechnology, fixed-time artificial insemination (TAI), progesterone, reproduction, fertility

1. Introdução

O anestro no pós-parto vai do parto até a manifestação do primeiro estro fértil (YAVAS & WALTON, 2000), podendo ser influenciado pelo estado nutricional pré e pós-parto (HOLNESS *et al.*, 1978), pela involução uterina (EL *et al.*, 1995; YAVAS & WALTON, 2000), pelo estímulo da mamada (LAMB *et al.*, 1997) e pela produção leiteira (BARLETT *et al.*, 1987).

O intervalo ideal de partos para que se obtenha o máximo de eficiência reprodutiva de uma fêmea bovina é de 12 meses, com intermitência parto-concepção próxima a 85 dias (YAVAS & WALTON, 2000). Assim, com o intuito de aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos, são empregadas estratégias para diminuir o período de anestro pós-parto, como o uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) que consiste em tratamentos hormonais para indução de estro e ovulação (FIKE *et al.*, 1997).

Em protocolos de IATF, a taxa de ovulação e fertilização não difere para as vacas ciclando ou em anestro (CREPALDI, 2009; SALES *et al.*, 2012), entretanto, a taxa de concepção é menor para as últimas (TORRES *et al.*, 2011), pois a sobrevivência embrionária em protocolos hormonais é reduzida, caso os embriões sejam derivados de ovócitos produzidos de vacas com folículos idosos, e com baixo escore de condição corporal (HANSEN, 2002). O folículo ovulatório entra na fase de crescimento 42 dias antes de ovular (LUSSIER *et al.*, 1987; WEBB *et al.*, 2004). Isto significa que eventos que ocorreram antes da inseminação podem influenciar a sobrevivência embrionária. Os resultados variáveis na indução da ovulação em vacas em anestro dependem, geralmente, do estado nutricional (BUTLER, 2003).

A aplicação de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, obtidos por meio da hidrólise ácida e enzimática de órgãos e glândulas, é considerada segura e indicada em nutrição animal (CORRÊA *et al.*, 1998; CAMPOS NETO *et al.*, 2003). Paffenholz & Theurer (1980) evidenciaram o estímulo da síntese de DNA e RNA, além da proliferação celular, quando da aplicação parenteral do hidrolisado de órgãos e glândulas. Estudos realizados por Baldwin *et al.* (1994), mostraram a existência de fortes evidências indicando que os aminoácidos livres provenientes de uma fonte externa (hidrolisados de órgãos e glândulas) são diretamente direcionados para a síntese proteica, não se misturando com os aminoácidos intracelulares provenientes do *turnover*

de proteínas preexistentes, e reforçando a hipótese de que a síntese de proteína dos órgãos e glândulas, que deram origem aos aminoácidos livres, é beneficiada devido à especificidade relativa entre si.

Assim, se preconiza que a administração de suplemento injetável de aminoácidos, derivados da hidrólise de órgãos e glândulas relacionadas à reprodução em fêmeas bovinas, estimularia a eficiência das glândulas das quais foi feita a hidrólise, evento que poderia levar a uma maior síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), além de hormônio folículo estimulante (FSH) e de hormônio luteinizante (LH; LITER, 1978; BALDWIN *et al.*, 1994), o que conseqüentemente, melhoraria a qualidade do oócito.

A partir desta perspectiva, objetivou-se avaliar os efeitos da administração injetável de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, do dia do parto até o momento da aplicação do protocolo de inseminação artificial em tempo fixo, sobre a dinâmica folicular e a eficiência reprodutiva em protocolos de sincronização de ovulação em vacas leiteiras mestiças.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado nos meses de maio a outubro de 2012, em propriedade situada no Município de Dores do Rio Preto, Estado do Espírito Santo, nas coordenadas geográficas de 20°41' Sul, 41°50' Oeste e 774 m de altitude. A propriedade localiza-se em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, com clima tropical de altitude e possui temperatura média anual de 19,2 °C e precipitação pluviométrica de 1.000 mm anuais.

Foram utilizadas 242 vacas lactantes mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), do primeiro ao quarto parto, que apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica, retenção de placenta e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico. O manejo das vacas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem principalmente de braquiário (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu). O sal mineral e a água foram fornecidos *ad libitum* e a suplementação com concentrado (22% de proteína bruta) na proporção de 1 Kg/ 3 L de leite.

No dia do parto, as vacas foram pesadas (PV, kg), determinando-se a condição corporal (CC, escala de 1 a 5) de acordo com a proposta por Edmonson *et al.* (1989). As

vacas foram divididas uniformemente quanto à ordem de parto e condição corporal entre os grupos. No dia do início do protocolo de sincronização da ovulação esses parâmetros foram analisados novamente. Verificou-se que não houve diferença quanto ao peso corporal, condição corporal, dias no pós-parto e produção de leite das vacas entre os tratamentos no dia do início do protocolo ($P>0,05$). As vacas apresentaram peso corporal médio de $437,6 \pm 2,8$ kg, a condição corporal média de $2,6 \pm 0,0$ e produção de leite média de $10,6 \pm 1,1$ litros.

Foram realizados dois experimentos em delineamento fatorial 2×2 simultâneos (ciclicidade das vacas e administração de suplemento injetável). No experimento I, foram feitos os exames da dinâmica folicular, enquanto que no experimento II, foi avaliada a eficiência reprodutiva das fêmeas. A ciclicidade das vacas correspondeu às vacas cíclicas ($T_{cíclica}$) e em anestro ($T_{anestro}$) e à administração de suplemento (T_{supl}) ou não ($T_{controle}$). A condição fisiológica das vacas foi determinada pela presença de corpo lúteo (vacas cíclicas) ou sua ausência (vacas em anestro) por exame ultrassonográfico e palpação retal sete dias antes e do início do protocolo de sincronização da ovulação.

O tratamento com suplemento (T_{supl}) consistiu em 10 aplicações de 10 mL de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos (Tabela 1) intramuscular (IM) a cada sete dias a partir do parto, com término no dia da inserção do dispositivo de progesterona (Figura 1); no tratamento controle ($T_{controle}$) não houve administração de suplemento.

No experimento I, foram selecionadas 30 vacas cíclicas ($T_{cíclica}$) e 30 em anestro ($T_{anestro}$), sendo que 30 vacas foram provenientes do T_{supl} e 30 do $T_{controle}$. Este experimento teve, então, quatro tratamentos com 15 animais por tratamento, assim constituídos: T1) $T_{supl}/T_{anestro}$ = vacas recebendo suplemento em anestro; T2) $T_{supl}/T_{cíclicas}$ = vacas recebendo suplemento cíclicas; T3) $T_{controle}/T_{anestro}$ = vacas não recebendo suplemento em anestro; e T4) $T_{controle}/T_{cíclicas}$ = vacas não recebendo suplemento cíclicas.

Tabela 1 – Composição da fórmula completa para 100 mL da solução de suplemento injetável de aminoácidos e polipeptídeos⁶

| Item | Quantidade |
|---|------------|
| Frasco A | |
| Hidrolisado de órgãos (fígado, pulmão, coração, baço e músculo) e glândulas de suínos (hipófise, tireóide e paratireóide) | 5.000 mg |
| Acetil metionina | 210 mg |
| L-Ácido glutâmico | 420 mg |
| Cobalto | 3 mg |
| Magnésio | 42 mg |
| Sódio | 16 mg |
| Ferro dextrano | 10 mg |
| L-Histidina cloridrato | 210 mg |
| L-Lisina cloridrato | 1.000 mg |
| L-Triptofano | 60 mg |
| Cobre | 15 mg |
| Manganês | 15 mg |
| Zinco | 8 mg |
| Água destilada q.s.p. | 100 mL |
| Frasco B | |
| Vitamina B1 | 500 mg |
| Vitamina B6 | 500 mg |
| Ácido nicotínico | 2.200 mg |
| Água destilada q.s.p. | 100 mL |

36% de peptídeos, 28% de aminoácidos, minerais e vitaminas.

Todos os animais foram submetidos a um mesmo protocolo de inseminação artificial em tempo fixo (IATF): – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona⁷ (DIP) e aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol⁸; dia 8 (D8), retirada do DIP, e aplicação IM de 0,150 mg de PGF_{2α}⁹; dia 9 (D9) aplicação IM de 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10 (D10), realizada a inseminação artificial (IA) 52 horas após a retirada do DIP (Figura 2).

⁶AMINOFORT®, Vitafort, Brasil.

⁷1,0 g de Progesterona, CRONIPRESS®, Biogénesis-Bagó, Argentina.

⁸1 mg/mL Benzoato de Estradiol, BIOESTROGEN®, Biogénesis-Bagó, Argentina.

⁹0,75 mg/mL d-Cloprostenol, CRONIBEN®, Biogénesis-Bagó, Argentina.

experimento I: Tsupl/Tanestro (n = 20); Tsupl/Tcíclica (n = 72); Tcontrole/Tanestro (n = 36); e Tcontrole/Tcíclica (n = 54).

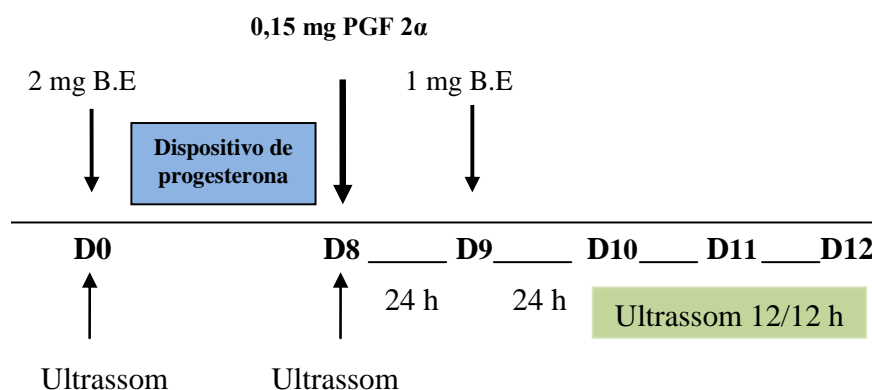


Figura 3 –Esquema do cronograma da realização dos exames ultrassonográficos nos tratamentos.

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen de touros da raça Girolando, da Central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial por exames ultrassonográficos, sendo determinada a taxa de prenhez de cada tratamento (número de vacas prenhes dividido pelo número total de vacas do tratamento).

Os dados paramétricos referentes ao número de folículos pequenos (< 6 mm), médios (6 a 8 mm), e grandes (> 8 mm), total de folículos e diâmetro do maior folículo, as taxas de crescimento folicular, de intervalo da retirada do implante de P4 à ovulação e da IATF à ovulação foram avaliados por ANOVA associada e as médias comparadas pelo teste de Tukey considerando os efeitos do tratamento, ciclicidade e dia da observação (0, 8 e 10) utilizando o PROC GLM (SAS, 2002).

Para avaliação do efeito do peso e da condição corporal (CC) das fêmeas sobre as taxas de gestação, foi realizada uma análise de regressão logística utilizando software R (R CORE TEAM, 2013).

Os dados de taxas de gestação e número de fêmeas cíclicas foram organizados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado (χ^2).

A significância adotada foi $\alpha = 0,05$.

3. Resultado e Discussão

No dia do início do protocolo de sincronização da ovulação as vacas que receberam previamente o suplemento (Tsupl) apresentaram maior taxa de ciclicidade em relação àquelas que não receberam (Tcontrole; $P < 0,05$; Figura 4). Das vacas que receberam suplemento, 22% (20/92), e das vacas do tratamento controle, 40% (36/90), estavam em anestro no início do protocolo de IATF.

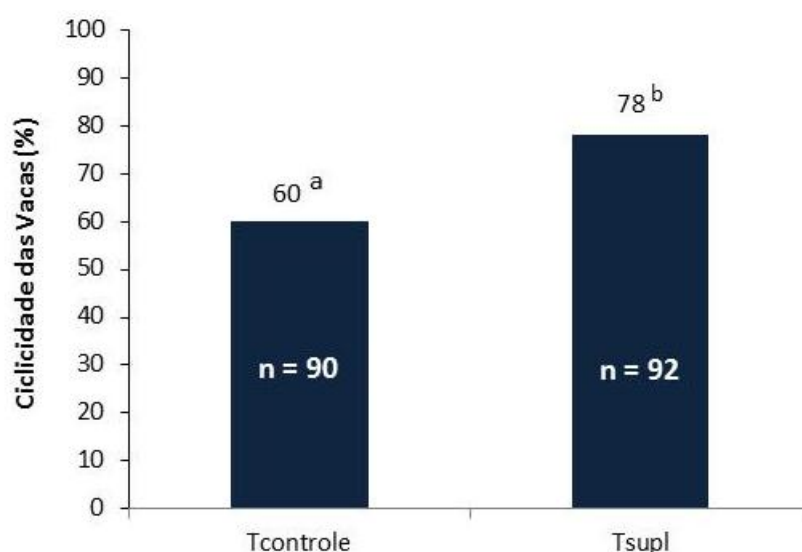


Figura 4 – Porcentagem de animais ciclando no início do protocolo em função do tratamento ($P < 0,05$).

Silva *et al.* (2008) administraram o suplemento de aminoácidos e polipeptídeos em vacas *Bos taurus taurus*, com alta produção de leite, observando menor intervalo do parto ao retorno ao estro em relação às que não receberam. Tal ocorrência demonstra a influência da suplementação no metabolismo do pós-parto, indicando que essa suplementação é capaz de minimizar o anestro no pós-parto. Diferenças de fertilidade entre os dois grupos de vacas podem estar associadas à ocorrência de distúrbios metabólicos durante o início da lactação (GRÖHN & RAJALA-SCHULTZ, 2000), pois, a suplementação com aminoácidos e polipeptídeos promove maior retenção de nitrogênio e propicia também a proliferação celular (PAFFENHOLZ e THEURER, 1980).

Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) com número de folículos e classificação folicular ($P > 0,05$; Tabela 2).

Tabela 2 –Número de folículos < 6 mm, de 6-8 mm, e > 8 mm, nos dias 0, 8 e 10, em função dos diferentes tratamentos e da ciclicidade (Média \pm erro-padrão da média)

| Item ¹ | Número de folículos | | | Totais |
|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | <6 mm | 6 a 8 mm | >8 mm | |
| TRATAMENTO² | | | | |
| Tcontrole | 10,7 \pm 0,6 ^b | 0,5 \pm 0,1 ^a | 0,6 \pm 0,1 ^a | 11,9 \pm 0,6 ^b |
| Tsupl | 12,4 \pm 0,5 ^a | 0,8 \pm 0,1 ^a | 0,6 \pm 0,1 ^a | 13,8 \pm 0,5 ^a |
| CICLICIDADE² | | | | |
| Tcíclica | 12,4 \pm 0,5 ^a | 0,6 \pm 0,1 ^a | 0,7 \pm 0,1 ^a | 13,7 \pm 0,5 ^a |
| Tanestro | 10,7 \pm 0,6 ^b | 0,7 \pm 0,1 ^a | 0,6 \pm 0,05 ^a | 12,0 \pm 0,6 ^b |
| DIA³ | | | | |
| 0 | 9,7 \pm 0,8 ^b | 0,6 \pm 0,1 ^{ab} | 0,4 \pm 0,1 ^c | 10,7 \pm 0,8 ^b |
| 8 | 12,4 \pm 0,5 ^a | 0,9 \pm 0,1 ^a | 0,7 \pm 0,1 ^b | 14,0 \pm 0,6 ^a |
| 10 | 12,6 \pm 0,7 ^a | 0,4 \pm 0,1 ^b | 0,9 \pm 0,04 ^a | 13,9 \pm 0,7 ^a |

¹ Tcontrole = tratamento controle; Tsupl = tratamento com suplemento; Tcíclica = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ² Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($P < 0,05$). ³ Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Com relação à ciclicidade, notou-se que as vacas em anestro apresentaram menor número de folículos < 6 mm e de folículos totais em relação às vacas cíclicas ($P < 0,05$), fato atribuído a uma menor atividade ovariana das fêmeas em anestro no início do protocolo de sincronização da ovulação. Outro fator a ser considerado é o dos animais em anestro possuírem menor produção de hormônio do crescimento, e, conseqüentemente, de IGF-1, além da maior concentração de IGFBP, que se liga ao IGF-1 (FERREIRA *et al.*, 2002). Isso implica em uma diminuição da resposta, visto que, o número de folículos na onda de emergência folicular está positivamente correlacionado com as concentrações circulantes de IGF-1, pois as vacas tratadas com hormônio do crescimento (estimulador de IGF-1) aumentam a quantidade de folículos durante a emergência folicular (GONG *et al.*, 1996).

Em relação ao tratamento, as fêmeas que não receberam suplemento (Tcontrole) tiveram menor número de folículos totais em relação às que receberam ($P < 0,05$). Assim,

a administração prévia de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos, mesmo não induzindo a ciclicidade em 100 % das fêmeas, foi capaz de estimular a atividade ovariana. Nos dias 8 e 10 foi observado maior número de folículos totais em relação ao dia 0, as condições fisiológicas proporcionadas pelo protocolo de sincronização à base de estradiol e progesterona proporcionaram aumento do número de folículos em crescimento, pela sincronização da emergência de uma nova onda folicular com êxito (BÓ *et al.*, 1995; BURKE *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2001; MELO, 2009).

Não houve efeito dos tratamentos, da ciclicidade das vacas e da interação desses fatores com taxa de crescimento folicular, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação ($P > 0,05$; Tabela 3), fato também relatado por Nascimento (2009), que demonstrou que a utilização prévia de suplemento não afetou esses parâmetros. Verificou-se que o momento ideal para obter grandes taxas de fertilização varia de 12 a 24 horas antes da ovulação (ROELOFS *et al.*, 2006; CREPALDI, 2009). Pelo intervalo da IA à ovulação, pode se ver que a inseminação foi realizada em tempo adequado para se obter altas taxas de prenhez (12,8 horas; Tabela 3).

Tabela 3 –Taxa de crescimento folicular e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (média \pm erro-padrão), em função dos tratamentos e da ciclicidade das vacas

| Item | Taxa de crescimento folicular (mm/dia) | Intervalo à ovulação | |
|--------------------------------|--|---|----------------|
| | | Retirada do dispositivo de progesterona (h) | IATF (h) |
| TRATAMENTO¹ | | | |
| Tcontrole | 1,6 \pm 0,1 | 64,3 \pm 1,1 | 11,8 \pm 1,2 |
| Tsupl | 1,8 \pm 0,1 | 65,7 \pm 0,7 | 13,7 \pm 0,7 |
| Média | 1,7 \pm 0,1 | 65,0 \pm 0,6 | 12,8 \pm 0,7 |
| CICLICIDADE² | | | |
| Tcíclica | 1,6 \pm 0,1 | 64,8 \pm 0,9 | 12,8 \pm 0,9 |
| Tanestro | 1,8 \pm 0,1 | 65,2 \pm 0,9 | 12,8 \pm 1,0 |
| Média | 1,7 \pm 0,1 | 65,0 \pm 0,6 | 12,8 \pm 0,7 |

¹ Tcontrole = tratamento controle; e Tsupl = tratamento com suplemento. ² Tcíclica = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ³ Nível descritivo de probabilidade do erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre tratamento pelo teste F.

No presente estudo, a taxa de crescimento folicular média encontrada foi satisfatória, demonstrando que o protocolo de sincronização da ovulação foi eficaz em

sincronizar uma nova onda de crescimento folicular e dar aporte hormonal para que esses folículos se desenvolvessem até a ovulação. A taxa de crescimento folicular média foi de 1,7 mm/dia, semelhante às taxas obtidas por pesquisadores em estudos recentes, trabalhando com protocolos de sincronização da ovulação, variando de 1,3 a 1,8 mm/dia em *Bos taurus taurus* (COLAZO *et al.*, 2011 e MELO, 2009; respectivamente) e de 1,4 mm/dia em *Bos taurus indicus* (MURTA, 2011).

Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) com diâmetro do maior folículo ($P > 0,05$; Tabela 4). O tratamento com suplemento de aminoácidos e polipeptídeos não aumentou o tamanho do folículo ovulatório 48 horas depois da retirada do dispositivo de progesterona. NASCIMENTO (2009) também não observou influência da administração de suplemento no diâmetro do maior folículo nas vacas submetidas ao protocolo de sincronização da ovulação. Entretanto, Silva *et al.* (2008) relataram que animais que receberam previamente o suplemento apresentaram folículos ovulatórios de maior tamanho em relação aos que não receberam.

O diâmetro do folículo ovulatório é considerado uma característica importante nos protocolos de IATF, pois está diretamente relacionado ao tamanho do corpo lúteo no diestro posterior (VASCONCELOS *et al.*, 2011), e este, por sua vez, está altamente correlacionado à secreção de progesterona (THATCHER *et al.*, 2001), que é essencial para o desenvolvimento embrionário pós-fertilização (MANN *et al.*, 1999).

Tabela 4 – Diâmetro do maior folículo em função dos tratamentos e da ciclicidade das vacas nos dias 8 e 10 (média \pm erro-padrão da média).

| Diâmetro (mm) do maior folículo | | | | | | |
|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| TRATAMENTO ¹ | | CICLICIDADE ² | | DIA ³ | | |
| Tcontrole | Tsupl | Tcíclica | Tanestro | 0 | 8 | 10 |
| 8.8 \pm 0.3 ^a | 9.1 \pm 0.3 ^a | 9.1 \pm 0.3 ^a | 8.7 \pm 0.3 ^a | 7.0 \pm 0.3 ^c | 8.4 \pm 0.3 ^b | 11.5 \pm 0.3 ^a |

¹Tcontrole = tratamento controle; Tsupl = tratamento com suplemento; Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si ($P < 0,05$); ²Tcíclica = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro; Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na linha, diferem entre si ($P < 0,05$). ³ Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os folículos ovulatórios tinham mais de 10 mm de diâmetros em média nas vacas de todos os tratamentos, sendo esse diâmetro, similares aos de vários estudos com taxas de prenhez satisfatórias (CREPALDI, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010; MURTA,

2011; SÁ FILHO *et al.*, 2011; SALES *et al.*, 2012) e, segundo Sartori *et al.* (2001), os folículos adquirem capacidade ovulatória com, aproximadamente, 10 mm de diâmetro.

Verifica-se que não houve interação dos tratamentos e da ciclicidade com a taxa de ovulação ($P>0,05$; Figura 5), além de, não ter ocorrido diferença entre os efeitos principais sobre a taxa de ovulação ($P>0,05$; Figura 6), e todos os grupos experimentais apresentaram taxa de ovulação satisfatória. O protocolo utilizado para sincronização da ovulação à base de progesterona e estrógeno tem sido eficiente em induzir a ovulação em diversos estudos (AYRES *et al.*, 2008; SÁ FILHO *et al.*, 2010; SALES *et al.*, 2011; SALES *et al.*, 2012). As taxas de ovulação, em estudos onde foi realizada a dinâmica folicular, estão situadas acima de 70% em todos os estudos, nas diferentes categorias (vacas ou novilhas), e nos diferentes padrões raciais (*Bos taurus taurus*, *Bos tarus indicus* e *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*; CREPALDI, 2009; COLAZO *et al.*, 2011; SÁ FILHO *et al.*, 2011; GUMEN *et al.*, 2012; SALES *et al.*, 2012; COLAZO *et al.*, 2013).

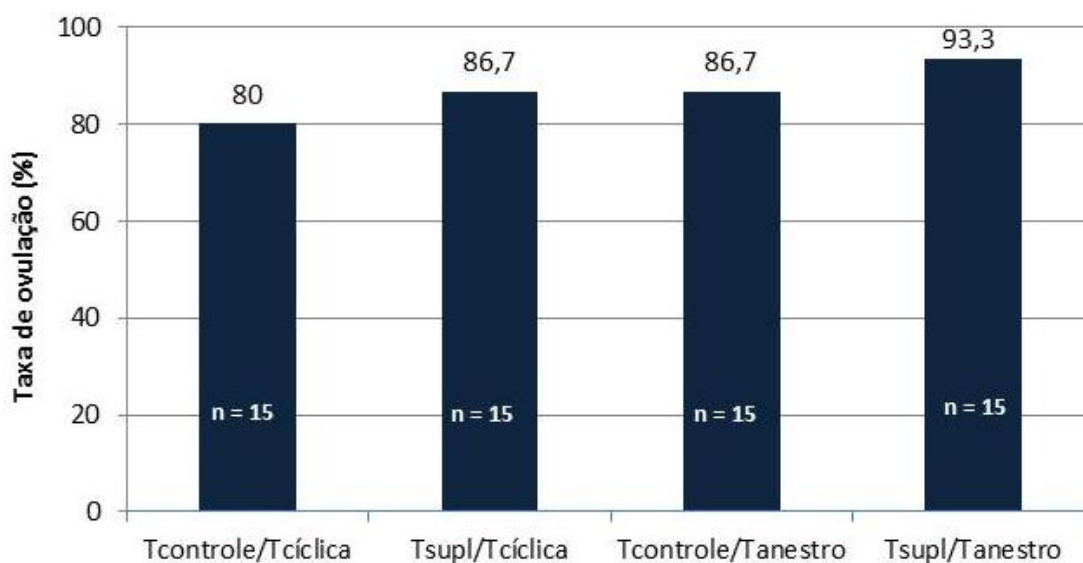


Figura 5 – Taxa de ovulação em função da ciclicidade e dos tratamentos ($P>0,05$).

A taxa de prenhez foi afetada pela administração prévia de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos ($P<0,05$). As fêmeas que receberam o suplemento, independente da ciclicidade, apresentaram maior taxa de prenhez em relação às aquelas que não receberam ($P<0,05$; Tabela 5).

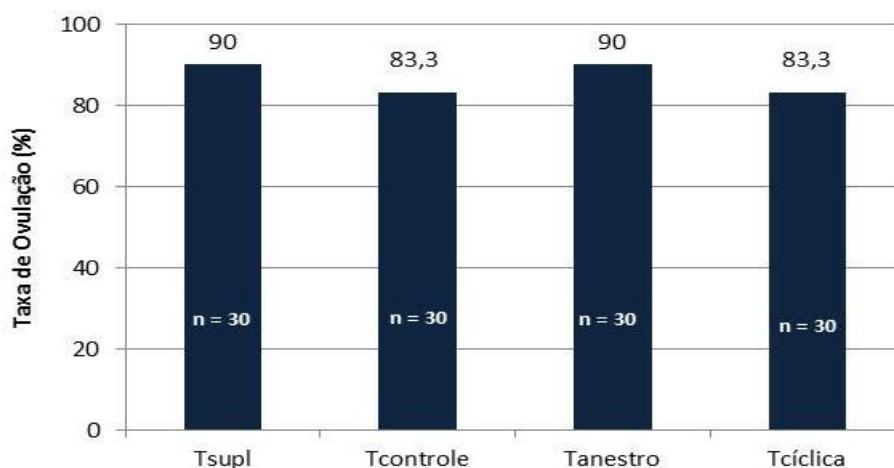


Figura 6 –Taxa de ovulação em função dos efeitos principais ($P>0,05$).

Tabela 5 -Taxa de prenhez, em função da ciclicidade e dos tratamentos

| CICLICIDADE/TRATAMENTO | Tsupl | Tcontrole |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Tcíclicas | 76,4% (55/72) ^{aA} | 53,7% (29/54) ^{bA} |
| Tanestro | 70,0% (14/20) ^{aA} | 33,3% (12/36) ^{bA} |

Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$); Letras maiúsculas iguais na mesma coluna não diferem ($P>0,05$), pelo teste de Qui-quadrado (χ^2).

Os efeitos principais avaliados nesse estudo foram: a administração prévia de suplemento e a ciclicidade das vacas sobre a fertilidade desses animais. Ambos os efeitos principais influenciaram na taxa de prenhez ($P<0,05$; Tabela 6); os animais que receberam o suplemento apresentaram taxa de prenhez maior em relação ao controle (75,0 x 45,6%); e as vacas cíclicas apresentaram maior taxa de prenhez em comparação àquelas que estavam em anestro (66,7 x 46,4%).

Tabela 6 -Taxa de prenhez em função dos efeitos principais

| EFEITOS PRINCIPAIS | NÚMERO | PRENHEZ |
|--------------------|--------|-----------------------------|
| Tcíclica | 126 | 66,7% (84/126) ^a |
| Tanestro | 56 | 46,4% (26/56) ^b |
| Tsupl | 92 | 75,0% (69/92) ^A |
| Tcontrole | 90 | 45,6% (41/90) ^B |

Letras minúsculas diferentes diferença entre cíclicas e anestro ($P<0,05$). Letras maiúsculas diferentes diferença entre controle e fortificante ($P<0,05$).

Nos trabalhos consultados que avaliaram a taxa de prenhez após utilização desse suplemento, verificou-se aumento na taxa de prenhez das fêmeas em anestro (NORTE *et al.*, 2005), enquanto que, Nascimento (2009) não encontrou efeito da administração injetável de suplemento de aminoácidos. Em vários trabalhos com relação à ciclicidade, a taxa de prenhez foi menor nas fêmeas em anestro submetidas a protocolo de sincronização (MENEGHETTI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2011; GOTTSCHALL *et al.*, 2012).

Assim, entende-se, que não há dúvidas de que ruminantes e não-ruminantes devem receber quantidade suficiente de aminoácidos essenciais para atender às necessidades de manutenção, produção e reprodução. No caso de ruminantes, todavia, a situação é mais complexa, dadas às particularidades do metabolismo intermediário, as transformações que os alimentos sofrem durante a fermentação ruminal e as dificuldades de se conhecer os aminoácidos disponíveis para absorção no duodeno, oriundos de uma mistura de proteína microbiana de alimentos não degradáveis no rúmen e pela via endógena (RODRIGUEZ, 1996).

De acordo com Corrêa *et al.* (1998) quando se degrada uma determinada proteína, obtém-se maior número de aminoácidos; então, ao fornecer um “pool” de aminoácidos via parenteral aos animais, estes não seriam misturados aos aminoácidos adquiridos via absorção digestiva. Assim, teria uma especificidade relativa de que a maior parte destes aminoácidos, aplicados via parenteral, seria direcionada para as glândulas que lhes dariam origem.

O suplemento de aminoácidos e polipeptídeos utilizado no presente estudo é derivado da hidrólise de órgãos e glândulas relacionadas à reprodução de suínos. Este suplemento pode ter estimulado nas fêmeas bovinas a eficiência das glândulas das quais foi feita a hidrólise, podendo ter levado a uma maior síntese e liberação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH; LITER, 1978; BALDWIN *et al.*, 1994), e, conseqüentemente, levou a uma melhora na qualidade do oócito, visto que, os parâmetros avaliados na dinâmica folicular não foram alterados. O único parâmetro alterado foi a taxa de prenhez.

Também foi avaliada a influência da condição corporal na taxa de prenhez dos animais deste estudo. As vacas com condição corporal igual a 2,0 apresentaram menor taxa de prenhez quando comparadas às de condição corporal igual a 3,0 ($P < 0,05$; Figura 7). Esse resultado corroborou com resultados de estudos prévios, em que se pode notar a relação do aumento do ECC, com o aumento na taxa de prenhez em vacas *Bos taurus*

taurus (HILLEGASS *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2009; GOTTSCHALL *et al.*, 2012) e *Bos taurus indicus* (MENEGHETTI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010).

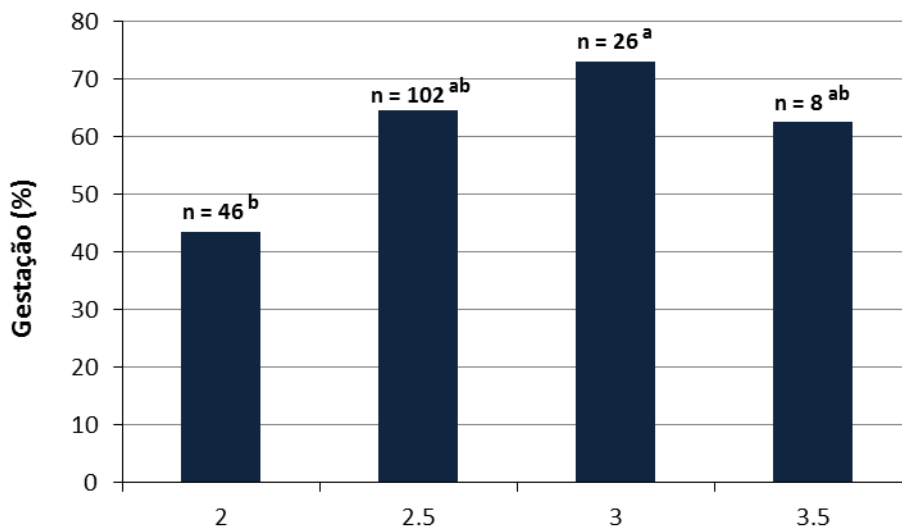


Figura 7 –Taxa de gestação em função da condição corporal ($P<0,05$).

Dessa forma, o tratamento com o suplemento, como foi realizado neste estudo, 10 aplicações intercaladas semanalmente, possui um alto custo para ser empregado a campo. Então, mais estudos são necessários para se explicar o mecanismo de ação do suplemento, testando outras doses e diferentes tempos de aplicação.

4. Conclusão

A administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos em protocolo de sincronização de ovulação em vacas mestiças não alterou a dinâmica folicular, entretanto proporcionou aumento da taxa de prenhez das vacas cíclicas e em anestro.

5. Referências Bibliográficas

AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R.M. *et al.* Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal of Reproduction Science**, v.109, p.77-87, 2008.

- BALDWIN, R.L.; CALVERT, C.C.; HANIGAN, M.D. *et al.* Modelling amino acid metabolism in ruminants. In: D'Mello, J.P.F. **Amino acids in farm animal nutrition**. Edinburg, UK.: Cab International, p.281-306, 1994.
- BAMBER, R.L.; SHOOK, G.E.; WILTBANK, M.C.; *et al.* Genetic parameters for anovulation and pregnancy loss in dairy cattle. **Journal Dairy Science**. v.92, p. 92:5739–53, 2009.
- BARTLETT, O.P.C.; KIRK, L.; COE, P.; *et al.* Descriptive epidemiology of anestrus in michigan holstein-friesian cattle. **Theriogenology**, v.27, p.31, 1987.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Animal of Reproduction Science**, v.39, p.193–204, 1995.
- BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E. *et al.* Day, Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrous and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal Reproduction Science**, v.66, p.161–174, 2001.
- BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v.83, p.211–218, 2003.
- CAMPOS NETO, O.; SCALZO, A.L.; CÔRREA, I. *et al.* Avaliação do suplemento de aminoácidos injetável (Aminofort), no desempenho de novilhas da raça nelore. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.1, 2003.
- COLAZO, M.G.; AMBROSEA, D.J. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. **Theriogenology**, v.76, p. 578–588, 2011.
- COLAZO, M.G.; DOUREY, A.; RAJAMAHENDRAN, R. *et al.* Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.79, p.833–841, 2013.
- CORRÊA, M. G. P.; CORRÊA, I.; LEMOS, A. M.; *et al.* Influência da suplementação com aminoácidos sobre ganho de peso em bovinos no período da entressafra. **Revisão do Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v.53, n.305, p.53-55, 1998.
- CREPALDI G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. São Paulo 2009. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária. 88p. 2009.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- EL, A.; ZAIN, D.; NAKAO, T. *et al.* Factors in the resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. **Animal of Reproduction Science**, v.38, p.203-214, 1995.
- FERREIRA, J.L.; TONIOLLI, R.; DUARTE, A.B.G. *et al.* Ação do fator de crescimento semelhante à insulina I (IGF-I) e de suas proteínas ligadoras (IGFBPs) no desenvolvimento folicular de bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.26, n.4, p.306-311, 2002.

- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K.. *et al.* Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2009-2015, 1997.
- GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A. *et al.* Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, p.611-622, 1996.
- GOTTSCHELL, C.S.; ALMEIDA, M.R.; TOLOTTI, F. *et al.* Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, n.1, p.1012.2012.
- GROHN, Y.T.; RAJALA-SCHULTZ. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. **Animal of Reproduction Science**, v.60, p.605-614, 2000.
- GUMEN, A.; GUENTHER, J.N.; WILTBANK, M.C. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**. v.86, p.3184-94, 2003.
- GUMEN, A.; KESKIN, A.; YILMAZBAS-MECITOGLOVA, G. *et al.* Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.78, p.1830-1838, 2012.
- HANSEN, P.J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal of Animal Science**, v.80, Suppl. 2 E33-E44. 2002.
- HILLEGASS, J.; LIMA, F.S.; SÁ FILHO, M.F. *et al.* Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.91, p.4226-37, 2008.
- HOLNESS, D.H.; HOPLEY, J.D.H.; HALE, D.H. The effects of plane of nutrition, live weight, temporary weaning and breed on the occurrence of oestrus in beef cows during the postpartum period. **Animal Production**, v.26, p.47-54, 1978.
- LAMB, G.C.; LYNCH, J.M.; GRIEGER, D.M. *et al.* *Ad libitum* suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cow's own calf prolongs postpartum anovulation. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2762-2769, 1997.
- LITER, M. Farmacologia del metabolismo de las proteínas simples y de las nucleoproteínas. In: **Compêndio de Farmacologia**. Buenos Aires: El Ateneo, p.705, 1978.
- LUSSIER, J.G.; MATTON, P.; DUFOUR, J.J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal of Reproduction Fertility**, v.81, p.301-307, 1987.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; *et al.* The regulatory of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction Fertility**, v.54, p.317-328, 1999.
- MELO, L.C. Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos da sincronização da ovulação. **Dissertação**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de veterinária. 41p., 2009.
- MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179-189, 2009.

- MOREIRA, F.; ORLANDI, C.; RISCO, C.A; *et al.* Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 84:1646–59. 2001.
- MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, L. *et al.* Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408, 2001.
- MURTA, J.E.J. Controle farmacológico da onda folicular em vacas nelore associando acetato de melengestrol, prostaglandina e gonadorelina. **Tese**. Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.
- NASCIMENTO, V.A. **Inseminação artificial em tempo fixo e transferência de embriões na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas**. Tese (Departamento de Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG. 2009, 178p.
- NORTE, A.L.; NORTE, H.L.P.; CORRÊA, I. **Trabalho com Aminofort na fase de fertilidade na fazenda lagoa grande, município de Medeiros Neto – BA, 2005**. Disponível em: <http://www.vitafort.com.br/imgs/trabalho_campo/1158090342_TAC_Amino03.doc?PHPSESSID=86c89078305361c4b222a8be020fbabe>.
- PAFFENHOLZ, V; THEARER, K. **A method of influencing cytoplasmic enzymes in cell cultures from patient with muscular dystrophy**. In: Duchenne's Disease Der Kassenart, Srmany, n.20, p.1-7, 1980.
- R CORE TEAM. A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.2013.
- RODRIGUEZ, N.M. Exigências em aminoácidos para vacas de alta produção. In: Simpósio Latino Americano de Nutrição Animal e Seminário Sobre Tecnologia da Produção de Rações, 1996, Campinas. **Anais....**Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.102-137, 1996.
- ROELOFS, J.B.; GRAAT, E.A.M.; MULLAART, E. *et al.* Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v.66, p.2173–2181, 2006.
- SÁ FILHO *et al.*, 2009 a SÁ FILHO, O. G. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p. 210-218. 2009.
- SÁ FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, JR.S.; PENTEADO, L. *et al.* Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal of Reproduction Science**, v.118, p.182–187, 2010.
- SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P.; FERREIRA, R.M.; *et al.* Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**. v.76, p.455–463, 2011.
- SALES, J.N.S., CREPALDI, G.A., GIROTTO, R.W., *et al.* Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science** (Print), v. 124, p. 1-7. 2011
- SALES, N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; *et al.* Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos*

- indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, p.510–516, 2012.
- SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk Factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal of Reproduction Science**, v.110, p.207-221, 2009.
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P.; *et al.* Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, n.65, v.5, p.1403-1409, 2001.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: guide of personal computers. Version 9.0. Cary, 2002, 1v.
- SILVA, T.F.; NETO, G.S.R.; BARRETO FILHO, J.B.; *et al.* Tamanho de folículo dominante e primeira ovulação pós-parto são influenciados por administração de aminoácidos e peptídeos de baixo peso molecular (Aminofort[®]) em vacas de alta produção. **Anais**, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras. 2008.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. *et al.* Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.55, n.1, p.75-90, 2001.
- TORRES, C.A.A.; OLIVEIRA, F.A.; NASCIMENTO, V.A.; *et al.* TAI protocol with FSH-P for cyclic and anestrous crossbred cows. In: XIX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2011, Recife. Anais do XIX Congresso de Reprodução Animal, v. 19. p.90-90, 2011.
- VASCONCELOS, J.L.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; *et al.* Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 15, p. 307–14, 2011.
- WEBB, R., GARNSWORTHY, P.C., GONG, J.G. *et al.* Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. **Journal of Animal Science**, 82. E-Suppl-E63-E74. 2004.
- YAVAS, Y; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.1-23, 2000.

Administração de flunixin meglumine do 14° ao 16° dia após a inseminação artificial em tempo fixo em vacas e novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)

Resumo: Objetivou-se, avaliar a influência da administração de flunixin meglumine no tempo de reconhecimento materno da gestação sobre a taxa de prenhez de novilhas e vacas leiteiras mestiças, submetidas previamente a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Utilizaram-se 100 vacas e 100 novilhas, em experimentos com delineamento fatorial 2x2 simultâneos (categoria animal (vacas ou novilhas) e administração de flunixin meglumine (Tcontrole ou TFM)): 1) Tcontrole – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) associada à aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol; dia 8 (D8), retirada do DIP e aplicação (IM) de 0,150 mg de PGF_{2α} e de 400 UI de eCG; dia 9 (D9), foi aplicado (IM) 1 mg de benzoato de estradiol; e dia 10 (D10), a inseminação artificial (IA) foi realizada 52 horas após a retirada do DIP; 2) TFM – similar ao Tcontrole, sendo aplicado, adicionalmente, o flunixin meglumine (FM), via intramuscular, na dose de 2,2 mg/kg, do 14° ao 16° dia após a inseminação artificial em tempo fixo. Foi avaliada a taxa de prenhez das fêmeas submetidas aos tratamentos: Tvacas/Tcontrole (n=50), Tnovilhas/Tcontrole (n=50), Tvacas/TFM (n=50), Tnovilhas/TFM (n=50). Os dados foram analisados em fatorial 2x2 a 5% de probabilidade. Não houve efeito da categoria das fêmeas, da aplicação do FM e da interação desses fatores com taxa de prenhez ($P>0,05$). A taxa de prenhez foi de 53, 68, 62 e 58% nos tratamentos Tnovilhas/TFM, Tnovilhas/Tcontrole, Tvacas/TFM e Tvacas/Tcontrole, respectivamente. A administração do (FM) ao tempo do reconhecimento materno da gestação não alterou a taxa de prenhez das vacas e novilhas; ambas as categorias apresentaram taxa de prenhez satisfatória em resposta ao protocolo de IATF adotado, independente da administração do FM.

Palavras-chave: biotecnologia, fertilidade, inseminação artificial em tempo fixo (IATF), anti-inflamatório não esteroide (AINE)

Administration of flunixin meglumine from the 14th to 16th day after fixed time artificial insemination of cows and crossbred heifers (*Bos taurus indicus x Bos taurus*)

Abstract: This study evaluated the influence of the administration of flunixin meglumine at the time of maternal recognition of pregnancy on the pregnancy rate of heifers and crossbred dairy cows submitted previously to timed artificial insemination (TAI) protocols. One hundred cows and one hundred heifers were utilized in the experiments with simultaneous 2x2 factorial design (animal category (heifers or cows) and the administration of flunixin meglumine (Tcontrol or TFM)): 1) Tcontrol – day 0 (D0) insertion of an intravaginal progesterone device (IPD) plus injection IM of 2 mg estradiol benzoate; day 8 (D8), removal of the IPD and injection, IM of 0.150 mg of PGF2 α and 400 UI of eCG; day 9 (D9), injection IM of 1 mg of estradiol benzoate; day 10 (D10), the artificial insemination (AI) was performed 52 hours after removal of the IPD; 2) TFM – similar to Tcontrol, but the animals received the flunixin meglumine (FM), intramuscularly, at a dose of 2.2 mg/kg, from the 14th to the 16th day after the timed artificial insemination. The pregnancy rate of females submitted to the treatments Tcows/Tcontrol (n=50), Theifers/Tcontrol (n=50), Tcows/TFM (n=50), Theifers/TFM (n=50) were evaluated. Data were analyzed with a 2x2 factorial 5% probability. The pregnancy rate was not affected by the female category, nor the application of the FM and the interaction between these factors for the pregnancy rate (P>0.05). The pregnancy rate was 53, 68, 62 e 58% for the treatments: Theifers/TFM, Theifers/Tcontrol, Tcows/TFM and Tcows/Tcontrol, respectively. The injection of FM at the time of the maternal recognition of pregnancy did not alter the pregnancy rate of cows and heifers: both categories showed satisfactory pregnancy rate, in response to the TAI protocol used, independent of the FM management.

Keywords: biotechnology, fertility, fixed-time artificial insemination (TAI), nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAID)

1. Introdução

A lucratividade na pecuária é diretamente dependente de sua eficiência reprodutiva. No caso dos bovinos, a mortalidade embrionária e fetal é uma das maiores causas de falhas reprodutivas, conforme revisado por Santos *et al* (2004) e Sartori (2004). Até o 17º dia pós-concepção ocorrem as maiores taxas de perda embrionária, sendo este período, considerado crítico para o reconhecimento materno da gestação (MIALON *et al.*, 1993) e determinante do índice de prenhez. Humblot (2001) reportou a ocorrência de 20,5% a 43,6% de mortalidade embrionária até 25º dia pós-inseminação.

No período de reconhecimento materno e estabelecimento da gestação ocorrem várias interações entre o concepto, o útero e o corpo lúteo (AROSH *et al.*, 2004). O concepto bovino secreta interferon-tau (IFN- τ) com pico de secreção entre o 17º e o 22º dia de gestação, que será responsável pela inibição da liberação endometrial de PGF_{2 α} (KERBLER *et al.*, 1997), inibindo, assim, a luteólise.

O bloqueio da luteólise depende da quantidade total de IFN- τ secretada e da área do lúmen uterino ocupada pelo concepto (MANN *et al.*, 1999). Dessa forma, o sucesso no estabelecimento da gestação depende de um delicado equilíbrio entre os mecanismos luteolíticos, desencadeadores da luteólise, e os mecanismos anti-luteolíticos, orquestrados pelo concepto para bloquear os primeiros.

A falha do reconhecimento materno da gestão induz a luteólise, promovida pela prostaglandina F_{2 α} (PGF_{2 α}), com consequente diminuição da concentração de progesterona e início de um novo ciclo reprodutivo (NISWENDER, 2000; THATCHER *et al.*, 2001).

As prostaglandinas são sintetizadas a partir do ácido araquidônico, sendo catalisada pelas ciclo-oxigenases. Existem duas isoformas da ciclo-oxigenase: COX-1, que é encontrada em vários tecidos e são responsáveis por funções de manutenção, e COX-2 uma enzima que dirige a síntese de PGF_{2 α} (MITCHELL & TRAUTMAN, 1993). Tem sido demonstrado que os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), em determinadas circunstâncias, podem diminuir as perdas embrionárias por estender o tempo de vida do corpo lúteo nas vacas (ODENSVIK *et al.*, 1998) ou bloquear a biossíntese de PGF_{2 α} (KONIGSSON *et al.*, 2002).

Estratégias anti-luteolíticas utilizando AINEs objetivam incrementar a probabilidade de sucesso da gestação pela interferência no processo de reconhecimento

materno. Tais estratégias visam a diminuição da capacidade luteolítica da unidade maternal, ou seja, visam inibir a síntese de prostaglandina, atrasando o ciclo estral. Acredita-se, assim, que este atraso permite ao conceito se desenvolver e produzir IFN- τ suficiente para prevenir a luteólise e manter a gestação (AKÉ-LÓPEZ *et al.*, 2005).

Sabe-se, ainda, que vacas submetidas à inseminação artificial por tempo fixo são mais propensas a fases luteais de curta duração, pois a ovulação induzida, muitas vezes, não permite que o útero tenha adequada exposição ao estrogênio no período pré-ovulatório, resultando em aumento da resposta uterina ao estímulo da ocitocina e em maior liberação de PGF_{2 α} e luteólise. Esta ocorrência leva, conseqüentemente, a uma maior reabsorção embrionária (MANN & LAMMING, 2000). Assim, é de suma importância que haja alternativas para diminuir essa liberação de PGF_{2 α} , e diminuir, por conseguinte, a luteólise nesses animais.

Assim, objetivou-se avaliar a influência da administração de flunixin meglumine, do 14º ao 16º dia pós-inseminação artificial em tempo fixo, ao tempo do reconhecimento da gestação sobre a taxa de prenhez de novilhas e vacas leiteiras mestiças (*Bos taurus taurus vs. Bos taurus indicus*).

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado nos meses de janeiro a maio de 2013, em propriedade situada no Município de Dores do Rio Preto, Estado do Espírito Santo, nas coordenadas geográficas de 20º41' Sul, 41º50' Oeste e 774 m de altitude. A propriedade localiza-se em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, com clima tropical de altitude. A temperatura média anual é de 19,2 °C e precipitação pluviométrica de 1.000 mm anuais.

Foram utilizadas 100 vacas lactantes mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), do primeiro ao quarto parto, que apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica, retenção de placenta e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico; e, 100 novilhas púberes com ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico. O manejo das fêmeas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem composta principalmente de braquiário (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu). O sal mineral e a água foram fornecidos *ad libitum* e suplementação com concentrado (22% de proteína bruta) na proporção de 1 Kg/ 3 L de leite.

Na inserção do dispositivo, registrou-se o período pós-parto das vacas relativo ao dia do início do protocolo de IATF (dia 0), pesou-se o leite, as vacas (PV, kg) e determinou-se a condição corporal (CC, escala de 1 a 5), de acordo com a proposta por Edmonson *et al.* (1989). As vacas foram divididas uniformemente quanto à ordem de parto, produção de leite e CC entre os grupos. Também registrou-se a idade em meses, o peso e a CC das novilhas, sendo divididas uniformemente entre os grupos.

As médias para as vacas de peso corporal, condição corporal, dias pós-parto e produção de leite era de $393,62 \pm 2,09$ kg, $2,63 \pm 0,01$ e $8,63 \pm 1,01$ litros, respectivamente. As novilhas apresentaram peso corporal médio de $349,40 \pm 4,37$ kg, escore de condição corporal médio de $3,45 \pm 0,03$ e idade média de $22,83 \pm 0,43$ meses.

O experimento foi realizado em delineamento fatorial 2 x 2 (categoria animal - vacas ou novilhas e administração de flunixin meglumine). No experimento foi avaliada a eficiência reprodutiva das fêmeas. A categoria animal correspondeu às vacas (Tvacas) e novilhas (Tnovilhas) e à administração de flunixin meglumine (FM; TFM) ou não (Tcontrole).

As vacas (100) e novilhas (100) foram distribuídas em dois grupos: 1) Tcontrole (n = 50 vacas e 50 novilhas) – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹⁰ (DIP) e aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol¹¹; dia 8 (D8), retirada do DIP, aplicação (IM) de 0,150 mg de PGF_{2α}¹² e de 400 UI de eCG¹³; dia 9 (D9), aplicação (IM) e 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10 (D10), realizada a inseminação artificial (IA) 50 a 54 horas após a retirada do DIP (Figura 1); 2) TFM (n = 50 vacas e 50 novilhas) – similar ao Tcontrole, sendo aplicado adicionalmente o flunixin meglumine¹⁴ via intramuscular na dose de 2,2 mg/kg em três aplicações do 14º ao 16º dia após a inseminação artificial em tempo fixo (Figura 2).

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen de touros da raça Girolando, da Central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial por exames ultrassonográficos, em que se determinou a taxa de prenhez de cada tratamento (número de vacas prenhes dividido pelo número total de vacas do tratamento).

¹⁰1,0 g de Progesterona, CRONIPRESS®, Biogénesis-Bagó, Argentina.

¹¹1 mg/mL Benzoato de estradiol, BIOESTROGEN®, Biogénesis-Bagó, Argentina.

¹²0,75 mg/mL d-Cloprostenol, CRONIBEN®, Biogénesis-Bagó, Argentina.

¹³200 UI/mL Gonadotrofina coriônica equina (eCG), NOVORMON 5000®, Syntex S.A., Argentina.

¹⁴8,3 mg/mL Flunixinina meglumina, FLUNAMINE®, Bayer, Alemanha.

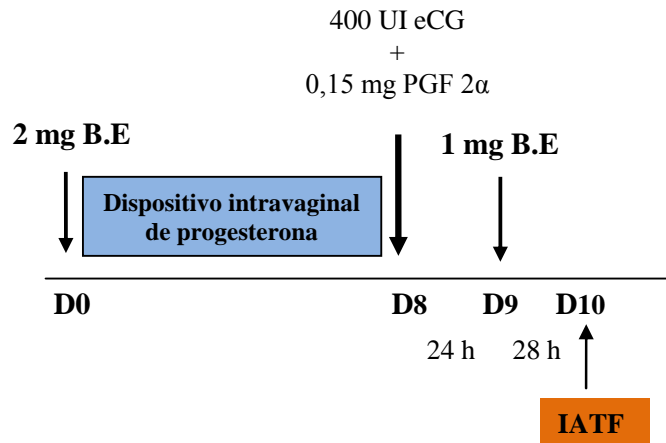


Figura 1 –Protocolo de IATF - Esquema (Tcontrole).

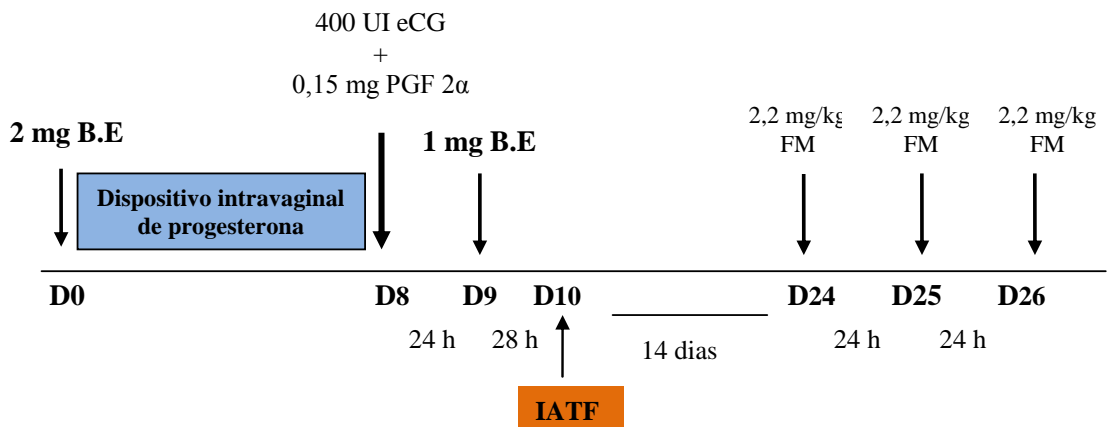


Figura 2 –Protocolo de IATF + flunixin meglumine do 14º ao 16º dia pós-inseminação – Esquema (TFM).

Todos os dados foram analisados pelo programa SAS, versão 9.0 (2002), a 5% de probabilidade de erro. A análise dos dados foi realizada em delineamento inteiramente casual. O peso vivo (PV) foi analisado por análise de variância e a condição de escore corporal, pelo teste de Kruskal-Wallis. A variável qualitativa (taxa de prenhez) foi analisada por análise de regressão logística.

Para avaliação do efeito do peso e condição corporal (CC) das fêmeas sobre as taxas de gestação, realizou-se a análise de regressão logística utilizando software R (CORE TEAM, 2013). Os dados de taxas de gestação foram organizados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado (χ^2). A significância adotada foi $\alpha = 0,05$.

3. Resultados e Discussão

Não houve efeito do tratamento com FM sobre as taxas de prenhez ($P>0,05$; Tabela 1). O tratamento com FM, do 14º ao 16º dia após IATF não foi capaz de aumentar a taxa de prenhez nas duas categorias estudadas, novilhas e vacas mestiças.

Tabela 1 - Taxa de prenhez, em função da categoria animal e dos tratamentos

| Categoria | FM | N | Taxa de Prenhez (%) |
|---------------------------|-----------|----------|----------------------------|
| Novilhas | C/ FM | 50 | 53 (26/50) ^a |
| | S/ FM | 50 | 68 (34/50) ^a |
| Vacas | C/ FM | 50 | 62 (31/50) ^a |
| | S/ FM | 50 | 58 (29/50) ^a |
| EFEITOS PRINCIPAIS | | | |
| Novilhas | | 100 | 60 (60/100) ^a |
| Vacas | | 100 | 60 (60/100) ^a |
| | C/ FM | 100 | 57 (57/100) ^a |
| | S/ FM | 100 | 63 (63/100) ^a |

Letras iguais na mesma coluna não diferem ($P>0,05$).

A taxa de prenhez nesse estudo foi considerada satisfatória (60,0%), a inserção do dispositivo de P₄ levou ao aumento do nível circulante de P₄ durante o desenvolvimento folicular, o que diminui pulsos de LH, e, possivelmente, melhora a competência do folículo dominante, a qualidade do oócito ovulado, e a qualidade do ambiente uterino (PULLEY *et al.*, 2013). Segundo Sá Filho *et al.* (2009), em geral, a taxa de prenhez média obtida após protocolos de sincronização da ovulação à base de progesterona e estrógeno foi de 49,6%, sendo influenciada pelo local da fazenda, manejo, raça (*Bos taurus taurus*, *Bos taurus indicus*, e *Bos taurus taurus* x *Bos taurus*

indicus), categoria (nulípara, primípara ou múltípara), e escore de condição corporal (ECC) no momento da realização do protocolo.

O conceito de utilização de anti-inflamatórios não esteroidais para inibir a síntese de prostaglandina não é novo: Odensvik *et al* (1998) relataram que em novilhas, a luteólise e a expressão do estro podem ser adiadas pela administração de AINEs devido ao fato destes serem capazes de inibir a síntese de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no endométrio, fato que pode favorecer a manutenção do corpo lúteo no período crítico de reconhecimento materno da gestação (BINELLI *et al.*, 2001).

A administração de AINEs como substâncias inibidoras da síntese das prostaglandinas a fim de evitar a luteólise em bovinos vem sendo amplamente utilizada no momento da inovulação dos embriões, nas receptoras com incremento nas taxas de concepção (ELLI *et al.*, 2001; PUGH *et al.*, 2004; SCENNA *et al.*, 2005; NARVAEZ *et al.*, 2010). Apesar desse tratamento não ser durante o período crítico, é possível que a liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ resultante das manipulações associadas à transferência de embriões estimule precocemente a luteólise; sendo assim, é esperado que os AINEs fossem capazes de suprir a síntese e secreção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ em resposta à manipulação do útero (WANN e RANDEL, 1990).

Outros pesquisadores também relataram efeito dos AINEs em retardarem a luteólise, havendo aumento no intervalo de estros, e utilizando em suas pesquisas FM (AIUMLAMAI *et al.*, 1990; ODENSVIK & JOHANSSON, 1995; AKÉ-LÓPEZ *et al.*, 2005; AMIRIDIS *et al.*, 2009; PUGLIESI *et al.*, 2012). Portanto, maior desenvolvimento embrionário poderia ocorrer como consequência do prolongamento do ciclo estral, aumentando a secreção de $\text{IFN-}\tau$ a um nível suficiente para induzir o reconhecimento da gestação (AKÉ-LÓPEZ *et al.*, 2005).

Outros autores avaliaram a utilização de AINEs em vacas inseminadas convencionalmente ou em protocolos de IATF, e encontraram resultados diversos. Merrill *et al* (2003) observaram uma tendência de maior taxa de prenhez em vacas tratadas com FM no 14º dia após inseminação em comparação a vacas sem nenhum tratamento. Merrill *et al* (2007) também relataram que vacas que receberam FM 14º dia após a IA tiveram taxas de prenhez 10% maiores e concentração de PGFM (um metabólito da $\text{PGF}_{2\alpha}$) 21% menor no soro do que os animais do grupo controle. Entretanto, os animais utilizados em ambos os experimentos foram induzidos ao estresse por transporte, o que pode ter influenciado a resposta ao AINE, visto que, manejos estressantes após inseminação artificial podem induzir a reabsorção

embrionária (Hansen *et al.*, 2002). Dessa forma, a inibição de tal liberação pode explicar o aumento nas taxas de prenhez observadas.

Guzeloglu *et al* (2007) trataram novilhas da raça Holandesa com FM na noite do 15º dia e na manhã do 16º dia pós-inseminação e, observaram maiores taxas de prenhez nos animais tratados em relação aos animais controle. Possivelmente, o tratamento com FM inibiu temporariamente a liberação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ de forma a favorecer o estabelecimento dos mecanismos anti-luteolíticos do concepto (produção de $\text{IFN-}\tau$), o que pode ter resultado em menor mortalidade embrionária.

Entretanto, diversos pesquisadores em estudos mais recentes não encontraram melhoras para as taxas de prenhez com utilização de AINE no período crítico do reconhecimento materno da gestação. Segundo Pfeifer *et al* (2008) a taxa de prenhez não foi influenciada pela aplicação de FM no 14º dia após a inseminação artificial em vacas no pós-parto e em novilhas inseminadas. Lucacin & Pinto Neto (2008) também não relataram diferença na taxa de gestação; contudo, os animais não gestantes no grupo tratado com FM apresentaram maior persistência folicular em relação aos animais do grupo controle. Os resultados indicam que o FM administrado durante o período crítico de vacas submetidas à IATF não influenciou a concentração de progesterona nem a taxa de gestação; porém influenciou a ocorrência de persistência folicular.

GEARY *et al.*, 2010 mostraram taxas de gestação também reduzidas, com a utilização de FM em relação ao controle em novilhas, e, no mesmo estudo, não se observou diferenças quanto à taxa de gestação em vacas sob o mesmo tratamento. Os autores acreditaram que estes resultados se deviam ao fato das novilhas serem mais sensíveis que as vacas para os efeitos da manipulação ou apresentarem efeitos negativos da injeção de FM, ou, ainda, que a dosagem de FM utilizada foi eficaz para aliviar efeitos da manipulação em vacas, mas não em novilhas.

Em outra pesquisa, Lucacin *et al* (2010) administraram a dose 1,1 mg / kg de FM (grupo tratado) e solução salina (grupo controle), entre os dias 11 e 16 após IATF dos animais. Os pesquisadores não verificaram nenhuma diferença entre as concentrações de progesterona e as taxas de gestação nos grupos. Rabaglino *et al* (2010) também não verificaram diferenças nas taxas de gestação entre os grupos tratados com FM e controle; entretanto, o tratamento foi constituído de apenas duas doses, uma no 15º e outra no 16º dia pós IATF.

Geary *et al* (2010) realizaram três experimentos para avaliar os efeitos do FM sobre as taxas de prenhez em novilhas e vacas Angus. Nos três experimentos foi

administrado o FM no 13º dia após a IATF, diferindo quanto ao protocolo de sincronização da ovulação. Não foi notado, nesse sentido, diferença nas taxas de gestação do grupo controle comparado com o grupo tratado em todos os experimentos. Corroborando os resultados de Rossetti *et al* (2011) que após administrarem uma única dose de FM em vacas Nelore e não verificaram diferenças quanto à taxa de gestação e nem das concentrações de P₄.

Os resultados verificados neste estudo, assim como os resultados obtidos pelos pesquisadores que avaliaram a eficácia do FM em aumentar as taxas de prenhez após IA, podem não ser satisfatórios devido dois principais fatores: segundo Pugliesi *et al* (2012), a partir de 8 horas após administração de FM em novilhas, este perde o seu efeito quanto a inibição de PGF_{2α}; e Godkin *et al* (2008) relataram que durante o período luteolítico existe grande quantidade de ácido araquidônico livre - este e os AINEs competem para se ligarem ao sítio ativo da enzima COX.

A condição corporal não influenciou a taxa de prenhez nas fêmeas (P>0,05; Figura 3). A taxa de prenhez total foi de 60% nas novilhas e vacas após o protocolo de IATF, sendo consideradas taxas satisfatórias. Neste estudo, todos os animais receberam 400 UI de eCG à retirada do dispositivo; e é sabido que o eCG fornece apoio gonadotrófico para o desenvolvimento folicular final (SÁ FILHO *et al.* 2010a; SÁ FILHO *et al.*, 2010b), sendo eficaz em aumentar a taxa de crescimento do folículo dominante, o diâmetro do folículo dominante na IATF, a taxa de ovulação dessas vacas submetidas a protocolos (BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009) e as concentrações de P₄ durante o diestro posterior (MARQUES *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.* 2010a; SÁ FILHO *et al.*, 2010c), que, por sua vez, é eficaz em aumentar as taxas de prenhez, principalmente em animais em anestro, de baixa condição corporal, e com poucos dias no pós-parto (CAVALIERI *et al.*, 1997; MARQUES *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2004; BARUSELLI *et al.*, 2006; AYRES *et al.*, 2007; ROSSA *et al.*, 2009). O somatório desses efeitos positivos pode ter beneficiado as vacas em anestro nesse experimento, o que está altamente correlacionado com o baixo ECC (BARUSELLI *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; AYRES *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2007; ROSSA *et al.*, 2009), não diferindo, assim, a taxa de prenhez entre os diferentes ECC.

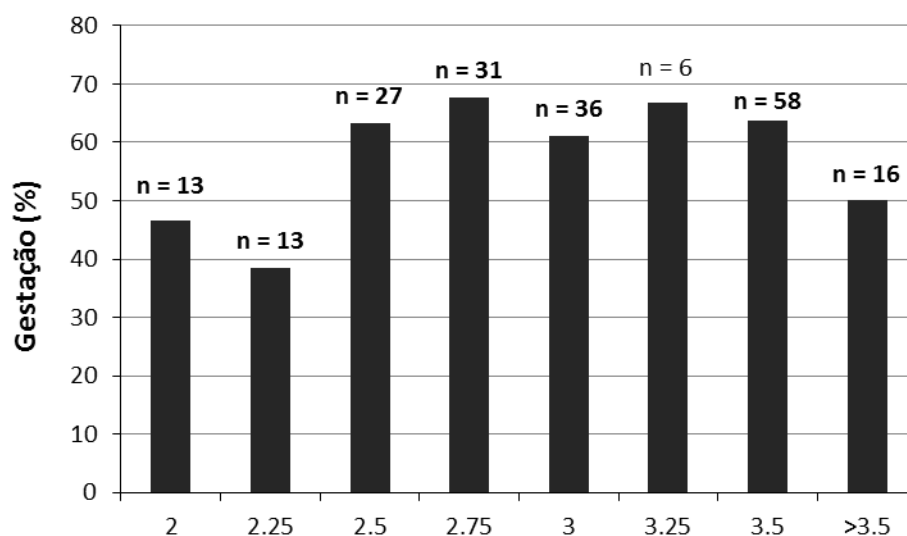


Figura 3 –Taxa de prenhez das vacas e novilhas em função do ECC no início do protocolo de IATF ($P>0,05$).

Nesta perspectiva, os anti-inflamatórios não esteroidais são considerados como uma nova estratégia para aumentar as taxas de prenhez nos bovinos. No entanto, os resultados obtidos a partir de estudos anteriores são conflitantes uns com os outros. Por esta razão, os AINEs e sua relação com IFN- τ e proteínas do endométrio devem ser investigados de uma forma mais detalhada. Assim, para elucidar os eventos relacionados à concepção e melhorar a taxa de prenhez com o uso de AINEs, mais estudos são necessários para explicar a fisiologia subjacente à utilização do FM; que devem comparar tratamentos com diferentes doses de FM e também levar em conta a forma de aplicação e o veículo do produto aplicado para se compreender melhor a ação do FM nos protocolos de IATF.

4. Conclusão

O uso de flunixin meglumine em fêmeas mestiças, novilhas e vacas lactantes, não foi eficaz em aumentar as taxas de prenhez após realização de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo.

5. Referências Bibliográficas

- AIUMLAMAI, S.; ODENSVIK, K.; STABENFELDT, G.; *et al.* Regulation of prostaglandin biosynthesis with flunixin meglumine in the bovine species. **Journal of Vet. Med.**, v.37, p.16–22. 1990.
- AKÉ-LÓPEZ, R.; SEGURA-CORREA, J.C.; QUINTAL-FRANCO, J. Effect of flunixin meglumine on the corpus luteum and possible prevention of embryonic loss in Pelibuey ewes. **Small Ruminant Research**, v.59, p.83-87. 2005.
- AMIRIDIS, G.S.; TSILIGIANNI, T.; DOVOLOU, E.; *et al.* Combine administration of gonadotropin-releasing hormone, progesterone, and meloxicam is an effective treatment for the repeat-breeder cow. **Theriogenology**, v.72(4), p.542-548. 2009.
- AROSH, A.; BANU, S.K.; KIMMINS, S.*et al.* Effect of interferon-t on prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling at the time of maternal recognition of pregnancy in cattle: evidence of polycrine actions of prostaglandin E2. **Journal of Endocrinology**, v.145, p.5280-5293. 2004.
- ARVAEZ, H.J. *et al.* Efeito do ibuprofeno administrado uma hora antes da inovulacao de embriões bovinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.3, p. 504-510. 2010.
- AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; *et al.* Validation of body condition score as a predictor of subcutaneous fat in Nelore (*Bos indicus*) cows. **Livestock Science**, v.123, p.175–9, 2009.
- AYRES. H.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P.; *et al.* Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35, n.3, p.113, 2007.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; *et al.* Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, p.214, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82, p.479-486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; CARVALHO, N.A.T.; *et al.* eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS

- ON ANIMAL REPRODUCTION 14., 2004, Porto Seguro. **Proceedings....** v.1, p.117, 2006.
- BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R; *et al.* Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. **Theriogenology**, 56: 1451-1463. 2001.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; PERES, L.C.; *et al.* Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Societ Reproduction Fertility**, v.64, p.223–36, 2007
- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; *et al.* Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.47, p.801–814, 1997.
- CORE TEAM. A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>. 2013.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- ELLI, M.; GAFFURI, B.; FRIGERIO, A.; *et al.* Effect of a single dose of ibuprofen lysinate before embryo transfer on pregnancy rates in cows. **Reproduction**, v.121, p.151-154, 2001.
- GEARY, T.W.; ANSOTEGUI, R.P.; MACNEIL, M.D.; *et al.* Effects of flunixin meglumine on pregnancy establishment in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.88, p. 943–949. 2010.
- GODKIN, J.D.; ROBERTS, M.P.; ELGAYYAR M.; *et al.* Tith of Phospholipase A2 regulation of bovine endometrial (BEND) cell prostaglandin production **Reproduction Biology Endocrinology**, v.6, p.44, 2008.
- GUZELOGLU, A.; ERDEM, H.; SARIBAY, M.K.; *et al.* Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers, **Veterinary Research**, v.160, p.404–406, 2007.
- HANSEN, P.J. Embryonic mortality in cattle from the embryo's perspective. **Journal of Animal Science** 80. E. Suppl. 2, E33-E44, 2002.
- HUMBLLOT, P. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. **Theriogenology**, v.56, p.1417–33, 2001.
- KERBLER, T.L.; BUHR, M.M.; JORDAN, L.T. *et al.* Relationship between maternal plasma progesterone concentration and interferon-tau synthesis by the conceptus in cattle. **Theriogenology**, v.47, p.703-714, 1997.
- KONIGSSON, K.; ODENSVIK, K.; KINDAHL, H. Endocrine, metabolic and clinical effects of intravenous endotoxin injection after pre-treatment with meloxicam in heifers. **Journal Veterinary Medicine A Physiology Pathology Clinical Med**, v.49, p.408–414, 2002.
- LUCACIN, E.; PINTO-NETO A.; Avaliação dos efeitos do flunixin meglumine sobre a concentração sérica de progesterona e ciclo estral em novilhas e vacas mestiças. **Revista Brasileira Ciências Veterinárias**, v.15, p.10-14, 2008.
- LUCACIN, E.; PINTO-NETO, M.F.; MOTA, M.F.; *et al.* Effects of flunixin meglumine on reproductive parameters in beef cattle. **Animal Reproduction**, v.7, n.2, p.75-79. 2010.

- MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S. *et al.* The regulatory of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal Reproduction Fertility**. v.54, p.317–328, 1999.
- MANN, G.E. & LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. **Animal Reproduction Science**. v. 64, p.171– 80, 2000.
- MARQUES, M. O.; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S.; *et al.* Increased pregnancy rates in *Bos taurus* × *Bos indicus* embryo recipients with treatments to increase plasma progesterone concentration. **Theriogenology**, v. 59, p. 369. 2003.
- MERRILL, M.L.; ANSOTEGUI, R.P.; WAMSLEY, N.E.; *et al.* Effects of flunixin meglumine on embryonic loss in stressed beef cows. Proceedings, Western Section, **American Society of Animal Science**. 54; 2003.
- MERRILL, M.L.; ANSOTEGUI, R.P.; BURNS, P.D.; *et al.* Effects of flunixin meglumine and transportation on establishment of pregnancy in beef cows. **Journal Animal Science**,. v.85, p. 1547-1554, 2007.
- MIALON, M.M . *et al.* Peripheral concentrations of a 60 kDa pregnancy serum protein during gestation and after calving and in relationship to embryonic mortality in cattle. **Reproduction Nutritional Development**, v.33, p.269-282, 1993.
- MITCHELL, M.D. & TRAUTMAN, M.S. Molecular mechanisms regulating prostaglandin action. **Mol. Cell. Endocrinol.**, v. 93, p. 7-10, 1993.
- NISWENDER, G.D. *et al.* Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiological Reviews**, 80:1-29. 2000.
- ODENSVIK, K.; GUSTAFSSON, H.; KINDAHL, H. The effect on luteolysis by intensive oral administration of flunixin granules in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.50, p.35-44, 1998.
- ODENSVIK, K.; JOHANSSON, I.M. High-performance liquid chromatography method for determination of flunixin in bovine plasma and pharmacokinetics after single and repeated doses of the drug. **Animal Journal Veterinary Research**, v.56, p.489–495, 1995.
- PFEIFER, L.F.M.; SCHNEIDER, A.; SILVA NET, J.W. *et al.* Avaliação biológica e econômica do uso de flunixin meglumine em vacas e novilhas de corte inseminadas em tempo fixo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 8, 2008.
- PUGH, M.L.; MOREIRA, M.B.; GILBERT, G.R.; *et al.* Influence of prostaglandin F2a synthesis inhibitors on pregnancy rate of embryo transfer recipient heifers. Anais do 15th International **Congress on Animal Reproduction**, Porto Seguro, Brazil, p. 399. 2004.
- PUGLIESI, M.A.; BEG, M.A.; CARVALHO, G.R.; *et al.* Effect of dose of estradiol-17β on prominence of an induced 13,14-dihydro-15-keto-PGF2α (PGFM) pulse and relationship of prominence to progesterone, LH, and luteal blood flow in heifers. **Domest Anim Endocrinol**, v.41, p. 98–109. 2012.
- PULLEY, S.L.; WALLACE, L.D.; MELLIEON JR. J.S.; *et al.* Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. **Theriogenology**, v.79, p.127–134, 2013.

- RABAGLINO, M.B.; RISCO, C.A.; THATCHER, M.J.; *et al.* Use of a five-day progesterone-based timed AI protocol to determine if flunixin meglumine improves pregnancy per timed AI in dairy heifers. **Theriogenology**, v.73(9), p.1311-1318. 2010.
- ROSSA, L.A.F.; BERTAN C.M.; ALMEIDA, A.B.; *et al.* Efeito da eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 199-206. 2009.
- ROSSETTIA, R.C.; PERDIGÃO, A.; MESQUITAC, F.S. *et al.* Effects of flunixin meglumine, recombinant bovine somatotropin and/or human chorionic gonadotropin on pregnancy rates in Nelore cows, **Theriogenology**, v.76, p.751-8, 2011.
- SÁ FILHO, M. F.; AMARAL, J. P. B.; MANTOVANI, A. P.; *et al.* Effect of synthetic progesterone (Afisterone®) administration at the moment of CIDR® insertion on follicular wave emergence in beef heifers. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 1., 2004, Porto Seguro. **Proceedings...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p. 127. 2004.
- SÁ FILHO, O. G.; MENEGHETTI, M.; PERER, R.; *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v. 72, p. 210-218. 2009.
- SÁ FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; PENTEADO, L.; *et al.* Equine chronic gonadotropin improves the efficacy of a progestin- based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.118, p.182-7, 2010a.
- SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; *et al.* Equine chronic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p. 651-8, 2010b.
- SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.P.; *et al.* Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cow. **Animal Reproduction Science**, v.120, p.120-123, 2010c.
- SANTOS, J.E.P.; JUCHEN, S.O.; CERRI, R.L.A. *et al.* Effect of bST and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n.87, p.868-881, 2004.
- SARTORI, R. Fertilização e morte embrionária em bovinos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (supl.), p.35-50, 2004.
- SAS: SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. **SAS Institute Inc.**, 2002.
- SCENNA, F.N.; HOCKETT, M.E.; TOWNS, T.M.; *et al.* Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v. 78, p. 38-45. 2005.

- SOUZA, A.H.; GUMEN, A.; SILVA, E.P.B.; *et al.* Supplementation with estradiol-17 beta before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, v.90, p.4623–34, 2007.
- SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A. *et al.* Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. ***Theriogenology***, v.72, n.1, p.10-21, 2009.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. *et al.* Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. ***Theriogenology***, v.55, n.1, p.75-90, 2001.
- WANN R.A. RANDEL R. D. Effect of uterine manipulation 35 day safer parturition on plasma concentration 13,14-dihydro-15-ketoprostaglandin F2 α in multiparous and primiparous Brahman cows. ***Jornal of Animal Science***. v.68, p.1389 -1394.1990.

Uso de diferentes indutores de ovulação em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças

Resumo: Objetivou-se avaliar a eficiência de três diferentes indutores da ovulação: benzoato de estradiol (BE), cipionato de estradiol (CE) e hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH), em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sobre a dinâmica folicular e a taxa de prenhez de vacas mestiças lactantes. Utilizou-se 216 vacas em dois experimentos com delineamento inteiramente casualizado. No experimento I, avaliou-se a dinâmica folicular, enquanto que, no experimento II, avaliou-se a eficiência reprodutiva das fêmeas. Todos os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização: dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) acrescida de aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol; dia 8 (D8), retirada do DIP, aplicação IM de 0,150 mg de PGF_{2α} e de 400 UI de eCG; no dia 8 os animais foram distribuídos em três tratamentos: 1) TBE9 – aplicação de 1mg de BE no dia 9 (D9), IM e a IA foi realizada 52 horas após a retirada do DIP; 2) TCE - foi aplicado 1,0 mg de CE, IM no D8 e a IA realizada 48 horas após a retirada do DIP; e 3) TGnRH - foi aplicado 100µg de GnRH, IM no dia 10 e a IA foi realizada no mesmo momento, 52 horas após a retirada do DIP. No experimento I, avaliou-se a dinâmica pelos protocolos: TBE9 (n= 15); TCE(n= 15); e TGnRH (n= 15). Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0, 8, e do dia da IATF até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante. No experimento II, avaliou-se a taxa de prenhez em protocolos similares, diferindo pelo número de animais: TBE9= 61 vacas, TCE= 58 vacas, e TGnRH= 52 vacas. Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado, a 5% de probabilidade. Não houve interação do dia de observação e o tratamento com o número de folículos e com a classificação folicular (P>0,05). Não houve diferença entre os indutores de ovulação quanto ao intervalo da IATF à ovulação (P>0,05). Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento e dia de observação) com diâmetro do maior folículo (P>0,05). A taxa de crescimento folicular foi menor no TCE (P<0,05). Não houve efeito dos tratamentos sobre a taxa de ovulação e prenhez (P>0,05). A taxa de ovulação foi de 93,3, 100,0 e 93,3%, a taxa de prenhez foi de 51,9, 62,3 e 37,9%, para TGnRH, TBE9 e TCE, respectivamente. A administração dos diferentes indutores da ovulação, BE, CE, e GnRH, em protocolo de IATF em vacas mestiças não apresentou diferenças marcantes nos padrões avaliados de dinâmica folicular e na taxa de prenhez.

Palavras-chave: biotecnologia, benzoato de estradiol (BE), cipionato de estradiol (CE), GnRH, reprodução

Different ovulation inductors on protocols of ovulation synchronization in crossbred cows

Abstract: This study aimed to evaluate the efficiency of three different ovulation inductors, estradiol benzoate (EB), estradiol cypionate (EC) and gonadotropin releasing hormone (GnRH), in protocols of fixed-time artificial insemination (TAI), on follicular dynamics and the pregnancy rate of lactating crossbred cows. Two hundreds sixteen (216) cows were used in two experiments in a completely randomized design. In the experiment I, the follicular dynamics were evaluated and, in the experiment II, the reproductive efficiency of cows were evaluated. All animals were submitted to a synchronization protocol: day 0 (D0) insertion of an intravaginal progesterone device (IPD) plus application IM of 2 mg of estradiol benzoate; day 8 (D8), removal of the IPD, injection, IM, of 0.150 mg of PGF2 α and of 400 UI of eCG, on day 8, the animals were allocated into three groups: 1) TEB9 – application of 1mg of EB on D9, IM, and the IA performed 52 hours after the removal of IPD, 2) TEC – injection of 1.0 mg of EC, IM, at D8 and the IA 48 hours after the removal of the IPD ; and 3) TGnRH – injection of 100 μ g of GnRH, IM, at day 10 and the AI realized at the same time, 52 hours after the removal of the do IPD. In experiment I, the dynamics of the protocols were evaluated: TEB9 (n= 15); TEC (n= 15); e TGnRH (n= 15). The ultrasound examinations were performed on days 0, 8, and on the day of the IATF to check for the absence of ovulation of the dominant follicle. At experiment II, it was evaluated the pregnancy rate in similar protocols, differing by the number of animals TEB9 = 61 cows, e TGnRH = 52 cows. The data were analyzed in a completely randomized at 5% probability. There was no interaction between the observation day and the treatment by the number of follicles and the follicular classification (P>0.05). There was no difference between the ovulation-inductors as the interval from TAI to ovulation (P>0.05). There was no interaction of the evaluated effects (treatment and day of observation) over the diameter of the largest follicle (P>0.05). The follicular growth rate was lower in the TEC (P<0.05). There was no effect from the treatments on the ovulation and pregnancy rate (P>0.05). The ovulation rate was 93.3, 100.0 and 93.3%, and the pregnancy rate were 51.9, 62.3 and 37.9% for TGnRH, TBE9 and TCE, respectively. The injection of the different ovulation inductors: EB, EC, and GnRH at TAI protocol in crossbred cows and heifers did not show any marked differences in the evaluated patterns of follicular dynamics and the pregnancy rate.

Keywords: biotechnology, estradiol benzoate (EB), estradiol cypionate (EC), GnRH, reproduction

1. Introdução

No rebanho leiteiro brasileiro é conhecida a predominância do gado mestiço, que possui enorme importância social e econômica, pois sua exploração é uma alternativa viável para diversos sistemas de produção que buscam redução no custo de produção a partir de animais mantidos em regime de pastejo (RUAS *et al.*, 2008). Isto se dá porque possuem características desejáveis, devido à heterose, que lhes confere rusticidade, capacidade produtiva e adaptação às limitações que prevalecem na maioria das fazendas, o que, entretanto, não dispensa a necessidade de práticas adequadas de manejo e alimentação (FERREIRA *et al.*, 1996).

Visando contornar os problemas relacionados ao anestro no pós-parto e às falhas na detecção de estro para a realização da inseminação artificial, programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) estão tendo, cada vez mais, maior aceitação junto aos pecuaristas brasileiros. Mas a intensificação de seu uso depende das taxas de prenhez obtidas e do custo por vaca gestante.

Os protocolos de sincronização da ovulação baseados na utilização da progesterona em conjunto com o estrógeno têm apresentado resultados satisfatórios nas taxas de prenhez, tanto nas vacas ciclando como nas vacas em anestro (BÓ *et al.*, 2003; BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009; SALES *et al.*, 2011; AYRES *et al.*, 2013; COLAZO *et al.*, 2013). Esses protocolos têm sido utilizados com sucesso para controlar a dinâmica folicular e luteal, além de utilizados também para sincronizar a ovulação, permitindo inseminação artificial (IA) sem a necessidade de detecção de estro (MACMILLAN *et al.*, 2003; BÓ *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009).

Associado ao protocolo de sincronização à base de progesterona e estrógeno, o benzoato de estradiol tem sido o indutor de ovulação mais utilizado se administrado 24 horas após a remoção do dispositivo de progesterona em *Bos taurus taurus* (COLAZO *et al.*, 1999; MARTÍNEZ *et al.*, 2002), em *Bos taurus indicus* (BARUSELLI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2009) e em *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* (NASCIMENTO *et al.*, 2009; TORRES *et al.*, 2011), requerendo, assim, submeter os animais a quatro manejos.

Também, outros indutores têm sido utilizados com eficácia, como o cipionato de estradiol (CE) em *Bos taurus indicus* (SÁ FILHO *et al.*, 2009; MENEGHETTI *et al.*,

2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010a) e hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) em *Bos taurus taurus* (TEIXEIRA, 2010). O CE pode ser administrado no momento da retirada do dispositivo de progesterona (CREPALDI, 2009) e o GnRH injetado à IA (TEIXEIRA, 2010; GOTTSCHALL *et al.*, 2012; KASIMANICAM *et al.*, 2012). A substituição do BE pelo CE ou GnRH, se não comprometer a eficiência da IATF, é interessante, pois reduz um manejo na aplicação do protocolo.

Nesta perspectiva, objetivou-se, portanto, avaliar a eficiência desses diferentes indutores da ovulação: BE, CE e GnRH, em protocolos de IATF, em vacas leiteiras mestiças.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado período de outubro de 2012 a abril de 2013, em propriedade situada no Município de Dores do Rio Preto, Estado do Espírito Santo, nas coordenadas geográficas de 20°41' Sul, 41°50' Oeste e 774 m de altitude.

A propriedade localiza-se em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, com clima tropical de altitude. A temperatura média anual da região é de 19,2 °C e a precipitação pluviométrica, de 1.000 mm anuais.

Foram utilizadas 216 vacas lactantes mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), do primeiro ao quarto parto, que apresentavam histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica, retenção de placenta e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico. O manejo das vacas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem composta principalmente de braquiarião (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu). O sal mineral e a água foram fornecidos *ad libitum* e a suplementação com concentrado (22% de proteína bruta) na proporção de 1 Kg/ 3 L de leite.

Na inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (DIP), registrou-se o período pós-parto relativo ao dia do início do protocolo de IATF (dia 0); pesou-se a produção de leite, as vacas (PV, kg) e determinou-se o escore de condição corporal (ECC; escala de 1 a 5), de acordo com a proposta por Edmonson *et al.* (1989). As vacas foram distribuídas uniformemente quanto à ordem de parto, produção de leite e CC entre os grupos. As vacas apresentaram peso corporal médio de 412,98±1,99 kg, escore de condição corporal médio de 2,43±0,03, dias pós-parto médio de 95,07±1,56 e

produção de leite média de 9,79±1,22 litros.

Foram realizados dois experimentos em que os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. No experimento I, foram feitos os exames da dinâmica folicular, enquanto que no experimento II, foi avaliada a eficiência reprodutiva das fêmeas.

Todos os animais foram submetidos a um protocolo de sincronização: dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹⁵ (DIP) e aplicação intramuscular (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol¹⁶; dia 8 (D8), retirada do DIP, aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α}¹⁷ e de 400 UI de eCG¹⁸. No dia 8 os animais foram distribuídos em três tratamentos: 1) TBE9 – aplicação de 1mg de BE¹⁹ no D9, IM, e a IA foi realizada 52 horas após a retirada do DIP (Figura 1); 2) TCE - aplicação 1,0 mg de CE²⁰, IM, no D8 e a IA foi realizada 48 horas após a retirada do DIP (Figura 2) e; 3) TGnRH - aplicação de 100µg de GnRH²¹, IM, no dia 10 e a IA foi realizada no mesmo tempo, 52 horas após a retirada do DIP (Figura 3).

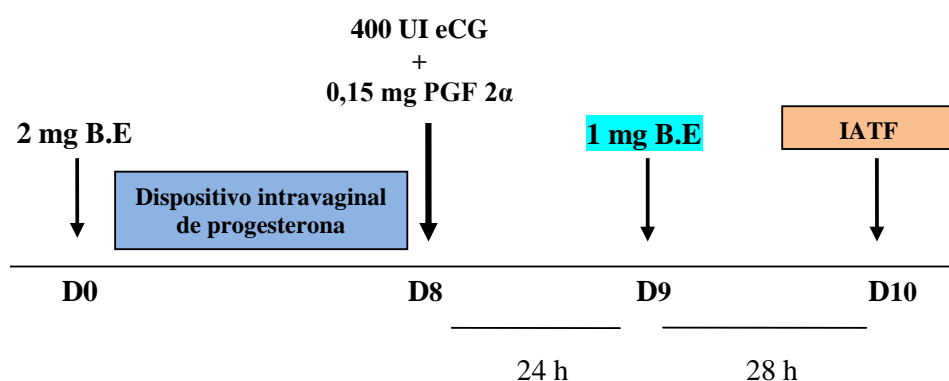


Figura 1 – Esquema ilustrativo do TBE9.

¹⁵ 1,0 g de Progesterona, CRONIPRESS[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

¹⁶ 1 mg/mL Benzoato de Estradiol, BIOESTROGEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

¹⁷ 0,75 mg/mL d-Cloprostenol, CRONIBEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

¹⁸ 200 UI/mL Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG), NOVORMON 5000[®], Syntex S.A., Argentina.

¹⁹ 1 mg/mL Benzoato de Estradiol, BIOESTROGEN[®], Biogénesis-Bagó, Argentina.

²⁰ 2 mg/mL Cipionato de Estradiol, E.C.P.[®], Pfizer, EUA.

²¹ 25 µg /mL Lecirelina, GESTRAN PLUS[®], ARSA S.R.L., Argentina.

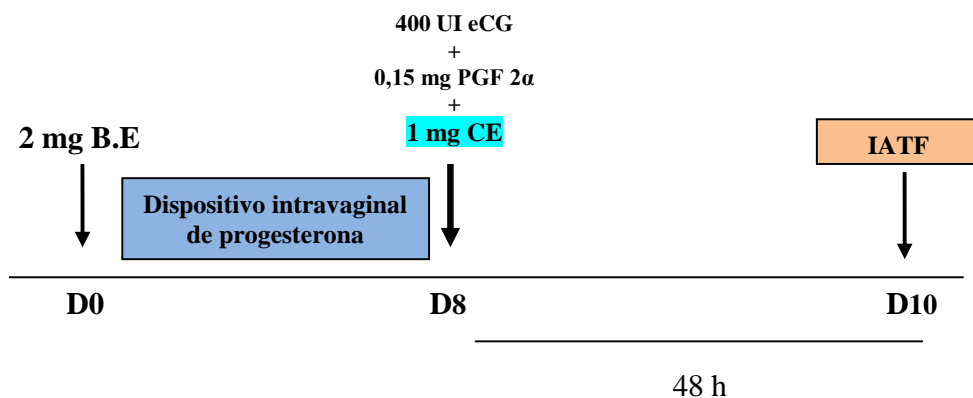


Figura 2 – Esquema ilustrativo do TCE.

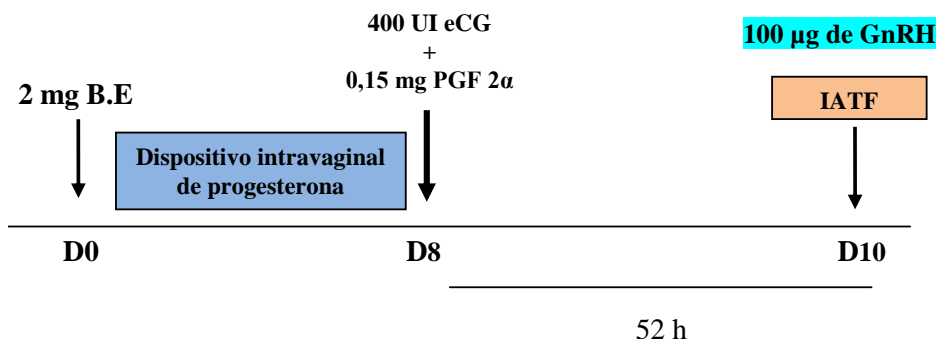


Figura 3 – Esquema ilustrativo do TGnRH.

No experimento I, as vacas foram distribuídas da seguinte forma: 1) TBE9 (n = 15 vacas); 2) TCE (n = 15 vacas) e; 3) TGnRH (n = 15 vacas). Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0 e 8 e no dia da IATF, sendo neste último dia, feito o acompanhamento da dinâmica folicular, com intervalo de 12 horas, até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante, com um aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (MINDRAY®, modelo DP2200 VET; Figura 4). Assim, foi verificado no D0 o *status* folicular, e nos demais dias avaliadas a dinâmica folicular e a taxa de ovulação. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro: pequenos (FP < 6 mm), médios (FM de 6 a 8 mm) e dominantes (FD > 8 mm). Calculou-se, então, a taxa de crescimento médio (mm/dia) pela diferença entre os diâmetros médios do folículo nos dias 10 e 8, dividido pelo número de dias.

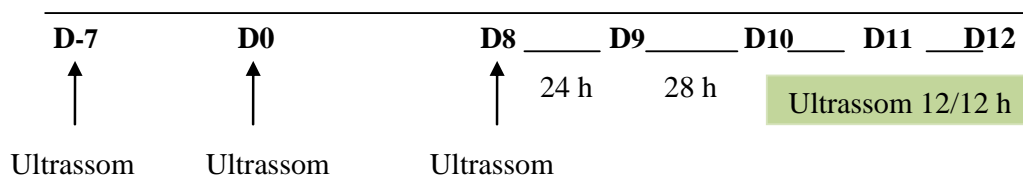


Figura 4 – Esquema dos exames ultrassonográficos.

No experimento II, as vacas foram distribuídas nos tratamentos propostos no experimento I: TBE9 = 61 vacas (Figura 1), TCE = 58 vacas (Figura 2) e; TGnRH = 52 vacas (Figura 3). As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen de touros da raça Girolando, da Central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial por exames ultrassonográficos, sendo determinada a taxa de prenhez de cada tratamento (número de vacas prenhes dividido pelo número total de vacas do tratamento).

Os dados paramétricos referentes ao número de folículos pequenos (< 6 mm), médios (6 a 8 mm), grandes(> 8 mm), total de folículos e diâmetro do maior folículo foram avaliados por ANOVA associada ao teste de Tukey, considerando os efeitos do tratamento e dia da observação utilizando o PROC GLM (SAS, 2002). As taxas de crescimento folicular, intervalo da retirada do implante de P4 e a ovulação e a IATF e a ovulação foram analisados por ANOVA, associada ao teste de Tukey (PROC ANOVA; SAS, 2002).

Para avaliação do efeito do peso e condição corporal (CC) das fêmeas sobre as taxas de gestação foi realizada uma análise de regressão logística, utilizando software R (CORE TEAM, 2013).

Os dados de taxas de gestação foram organizados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado (χ^2 g11=3.84; P= 0,05).

A probabilidade adotada foi $\alpha = 0,05$.

3. Resultados e Discussão

Não houve interação dos dias de observações e o tratamento com o número de folículos e com a classificação folicular ($P > 0,05$; < 6 mm, 6 a 8 mm e > 8 mm – Tabela

1). Entretanto, no dia 10 houve maior número de folículos > 8 mm em relação ao dia 0, em todos os tratamentos ($P < 0,05$). Assim, notou-se que as condições fisiológicas proporcionadas pelo protocolo de sincronização à base de estradiol e progesterona proporcionaram aumento do número de folículos em crescimento. Devido ao fato de sincronizarem a emergência de uma nova onda folicular com êxito (BÓ *et al.*, 1995; BURKE *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2001; MELO, 2009), esses protocolos têm sido utilizados com sucesso para controlar a dinâmica folicular e luteal e para sincronizar a ovulação, permitindo IA sem a necessidade de detecção de estro (BÓ *et al.*, 2003; MACMILLAN *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009). Atualmente, esses protocolos são o principal tratamento comercial na América do Sul para sincronizar a emergência da onda folicular e ovulação para IATF em vacas (BÓ *et al.*, 2007; SÁ FILHO *et al.*, 2009).

Tabela 1 – Número de folículos menores que 6 mm, de 6-8 mm, e maiores que 8 mm, nos dias 0, 8 e 10, em diferentes tratamentos (Média \pm erro-padrão da média).

| Item ¹ | Número de folículos | | | Totais |
|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | < 6 mm | 6 a 8 mm | > 8 mm | |
| TRATAMENTO² | | | | |
| TGnRH | 11,9 \pm 1,1 ^a | 0,7 \pm 0,1 ^a | 0,6 \pm 0,1 ^a | 13,2 \pm 1,1 ^a |
| TBE9 | 11,2 \pm 0,9 ^a | 0,5 \pm 0,1 ^a | 0,8 \pm 0,1 ^a | 12,4 \pm 0,9 ^a |
| TCE | 13,7 \pm 1,0 ^a | 0,6 \pm 0,1 ^a | 0,7 \pm 0,1 ^a | 15,1 \pm 1,0 ^a |
| DIA² | | | | |
| 0 | 12,0 \pm 1,2 ^a | 0,8 \pm 0,1 ^a | 0,2 \pm 0,1 ^b | 13,0 \pm 1,2 ^a |
| 8 | 12,4 \pm 1,0 ^a | 0,7 \pm 0,2 ^a | 0,9 \pm 0,1 ^a | 14,0 \pm 1,1 ^a |
| 10 | 12,5 \pm 0,8 ^a | 0,2 \pm 0,1 ^b | 1,0 \pm 0,1 ^a | 13,8 \pm 0,8 ^a |

¹TGnRH = tratamento com GnRH; TBE9 = tratamento com BE; TCE = tratamento com CE. ^{1,2}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Observou-se também que não houve diferença entre os indutores de ovulação quanto ao intervalo da IATF à ovulação ($P > 0,05$; Tabela 2), no TGnRH, o intervalo da retirada do dispositivo de P4 à ovulação foi maior que no TCE ($P < 0,05$; Tabela 2). Entretanto os animais do TBE9 não diferiram daqueles dos outros tratamentos quanto a esse intervalo ($T > 0,05$; Tabela 2).

Tabela 2 –Taxa de crescimento folicular e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (média±erro-padrão), em função dos tratamentos.

| Tratamento ¹ | Taxa de crescimento folicular (mm/dia) | Intervalo à ovulação | |
|-------------------------|--|---|------------------------|
| | | Retirada do dispositivo de progesterona (h) | IATF (h) |
| TGnRH | 1,9± 0,2 ^a | 66,7 ± 1,3 ^a | 14,8± 1,5 ^a |
| TBE9 | 1,5± 0,2 ^a | 64,4 ± 0,7 ^{ab} | 12,4± 0,7 ^a |
| TCE | 0,7± 0,2 ^b | 61,4 ± 1,0 ^b | 12,8± 1,2 ^a |
| Média | 1,4 ± 0,1 | 63,1 ± 0,6 | 13,2 ± 0,6 |

¹TGnRH = tratamento com GnRH; TBE9 = tratamento com BE; e TCE = tratamento com CE. ²Nível descritivo de probabilidade do erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre tratamento pelo teste F. Letras minúsculas na coluna diferem (P < 0,05).

O tratamento com GnRH resulta em um aumento repentino de LH, que atinge um pico dentro de 2 horas e provoca a ovulação em torno de 24 horas após o tratamento (SOUZA *et al.*, 2007; BRUSVEEN *et al.*, 2009; GALVÃO *et al.*, 2010). O tratamento com CE induz ao pico de LH 45,0 a 54,6 horas após (COLAZO *et al.*, 2003; SALES *et al.*, 2007; SALES *et al.*, 2012), e o tratamento com BE, induz ao pico de LH 19,6 a 21,5 horas após a administração (LAMMOGLIA *et al.*, 1998; MARTINEZ *et al.*, 2007; SALES *et al.*, 2012).

A diferença apresentada no tempo da indução do pico de LH nos estrógenos se deve à diferença na meia-vida desses, pois o CE possui baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, liberação mais lenta a partir do local de administração, que leva a uma atividade biológica mais prolongada em comparação ao BE (VYNCKIER *et al.*, 1990). Apesar dessas diferenças referentes ao tempo de estímulo e ao pico de LH, os dois ésteres de estradiol foram semelhantes quanto ao tempo da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação. Todavia, o tempo da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação foi maior para o TGnRH quando comparado ao CE, fato devido à diferença do momento em que os fármacos foram administrados e ao tempo da indução do pico de LH. Esses resultados corroboram com os valores obtidos por Sales *et al.* (2012).

Mesmo esses fármacos apresentando diferentes tempos na indução do pico pré-ovulatório de LH, não houve diferença quanto ao intervalo da inseminação à ovulação e dispersão das ovulações nos diferentes tratamentos (P>0,05; Figura 5), como se pode observar, devido à antecipação da administração do CE e do atraso da administração do GnRH em relação à administração do BE, que possui tempo médio em relação a esses outros dois fármacos.

Verificou-se que o momento ideal para obter grandes taxas de fertilização varia de 12 a 24 horas antes da ovulação (ROELOFS *et al.*, 2006; CREPALDI, 2009). Então, pode-se concluir, analisando o intervalo da IA em relação à ovulação, que esta foi realizada em um tempo adequado para que se tenham altas taxas de prenhez (Tabela 2; Figura 5).

A taxa de crescimento folicular foi menor no TCE ($P < 0,05$; Tabela 2), demonstrando que a utilização do CE no dia 8 do protocolo de IATF afeta a taxa de crescimento folicular. Esse resultado corroborou verificados achados por Ayres *et al.* (2008), onde a administração de estrógeno exógeno, no momento da retirada do dispositivo de progesterona, diminui a taxa de crescimento folicular. A taxa de crescimento folicular verificada neste estudo foi semelhante às taxas observadas em estudos recentes, utilizando protocolos de sincronização da ovulação que foram de 1,3 a 1,8 mm/dia em *Bos taurus taurus* (COLAZO *et al.*, 2011 e MELO, 2009; respectivamente) e de 1,4 mm/dia em *Bos taurus indicus* (MURTA, 2011).

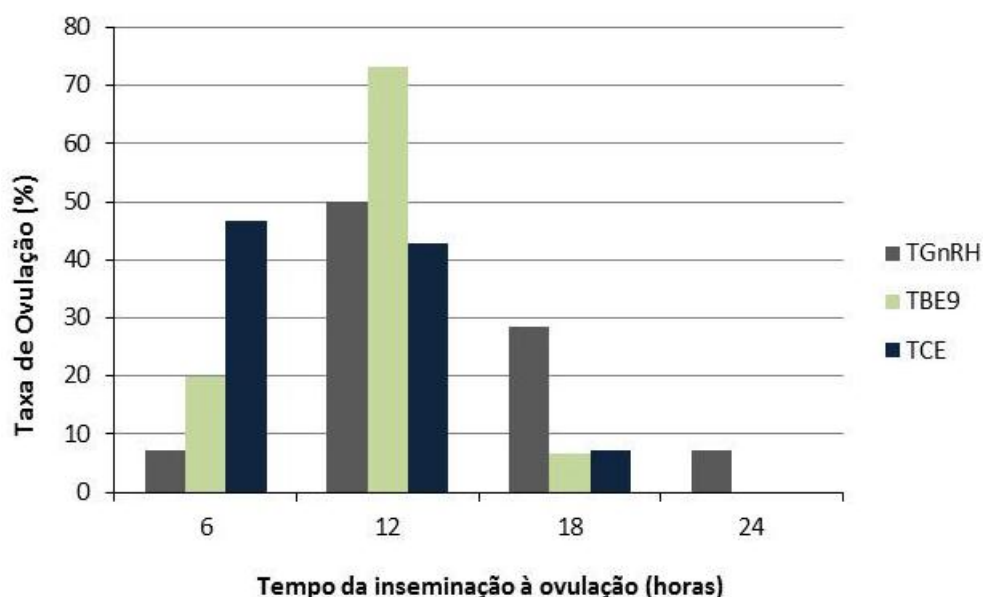


Figura 5 – Dispersão das ovulações nos diferentes tratamentos após a IA ($P > 0,05$).

Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento e dia de observação) com diâmetro do maior folículo ($P > 0,05$; Tabela 3). O diâmetro do folículo ovulatório é considerado uma característica importante nos protocolos de IATF, pois está diretamente relacionado ao tamanho do corpo lúteo no diestro posterior (VASCONCELOS *et al.*, 2011) e, por sua vez, está altamente correlacionado com a

secreção de progesterona (THATCHER *et al.*, 2001), essencial para o desenvolvimento embrionário pós-fertilização (MANN *et al.*, 1999).

Neste sentido, as taxas de prenhez satisfatórias foram observadas em outros estudos com diâmetro folicular no dia 10 similar ao deste estudo (CREPALDI, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010b; MURTA, 2011; SÁ FILHO *et al.*, 2011; SALES *et al.*, 2012). Segundo Sartori *et al.* (2001), os folículos adquirem capacidade ovulatória com, aproximadamente, 10 mm de diâmetro, assim os três tratamentos possuíam folículos no tamanho ovulatório.

Tabela 3 –Diâmetro do maior folículo em função dos tratamentos nos dias 8 e 10 (média ± erro-padrão da média).

| Diâmetro (mm) do maior folículo | | | | |
|---------------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------|------------|
| Tratamento ¹ | | | Dia ² | |
| TGnRH | TBE9 | TCE | 8 | 10 |
| 10,7 ± 0,5 ^a | 11,4 ± 0,5 ^a | 11,0 ± 0,4 ^a | 9,7 ± 0,3 | 12,5 ± 0,3 |
| P-valor 0,4605 | | | P-valor <0,0001 | |

¹TGnRH = tratamento com GnRH; TBE9 = tratamento com BE; TCE = tratamento com CE. ^{1,2}Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na linha diferem entre si (P<0,05).

Não houve efeito dos tratamentos sobre a taxa de ovulação e prenhez (P>0,05; Tabela 4), o que corrobora os resultados obtidos em estudo que também avaliou esses três indutores de ovulação (MENEGHETTI *et al.*, 2009).

Tabela 4 – Taxa de prenhez e ovulação, em função dos tratamentos

| Tratamento ¹ | Taxa de ovulação (%) | Taxa de prenhez (%) |
|-------------------------|----------------------------|----------------------------|
| TGnRH | 93,3 (14/15) ^a | 51,9 (27/52) ^a |
| TBE9 | 100,0 (15/15) ^a | 62,3 (38/61) ^a |
| TCE | 93,3 (14/15) ^a | 37,9 (22/58) ^a |
| Média | 95,6 (43/45) ^a | 50,9 (87/171) ^a |

TGnRH = tratamento com GnRH; TBE9 = tratamento com BE; e TCE = tratamento com CE. ²Nível descritivo de probabilidade do erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre tratamento pelo teste F. Letras minúsculas na coluna diferem (P<0,05).

Apesar das diferenças farmacológicas, ambos os ésteres de estradiol e o GnRH, foram eficazes na indução da ovulação TGnRH (93,3%; 14/15), TBE9 (100,0%; 15/15), e TCE (93,3%; 14/15), e na sincronização do tempo de ovulação (Figura 5). O protocolo utilizado para sincronização da ovulação à base de progesterona e estrógeno tem sido

eficiente em induzir a ovulação em diversos estudos (AYRES *et al.*, 2008; SÁ FILHO *et al.*, 2010a; SALES *et al.*, 2011; SALES *et al.*, 2012). Pode-se acrescentar por este estudo, que esses fármacos foram eficientes em induzir um pico de LH, o que resultou em ovulações sincronizadas, fato confirmado por Sales *et al.* (2008), que observou a eficácia desses indutores em fêmeas *Bos taurus indicus* amamentando e submetidas ao protocolo de IATF.

Segundo Cavalieri *et al.* (1997), a administração de eCG reduz a variação no momento da ovulação e aumenta a incidência de ovulação. Dessa forma, supõe-se que o eCG aplicado no dia 8 em todas as vacas desse estudo contribuiu nesse quesito. Os protocolos de sincronização da ovulação estão bem elucidados e eficientes quanto a indução da ovulação, independente dos indutores de ovulação utilizados, as taxas de ovulação, em estudos onde foi realizado a dinâmica folicular estão situadas acima de 70% em todos os estudos nas diferentes categorias, vacas ou novilhas, e nos diferentes padrões raciais, *Bos taurus taurus*, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* (CREPALDI, 2009; COLAZO *et al.*, 2011; SÁ FILHO *et al.*, 2011; GUMEN *et al.*, 2012; SALES *et al.*, 2012; COLAZO *et al.*, 2013).

Notou-se que a taxa de prenhez total foi de 50,9%, sendo as taxas de prenhez de 51,9, 62,3 e 37,9% para TGnRH, TBE9 e TCE, respectivamente (Figura 6). A taxa de prenhez dos animais não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,05$). Ela é considerada satisfatória, provavelmente a inserção do dispositivo de P4 levou ao aumento do nível circulante de P4 durante o desenvolvimento folicular, o que diminui pulsos de LH e melhora a competência do folículo dominante, a qualidade do oócito ovulado, e a qualidade do ambiente uterino (PULLEY *et al.*, 2013). Meneghetti *et al.* (2009) também avaliaram esses indutores de ovulação e obtiveram resultados semelhantes aos verificados neste estudo.

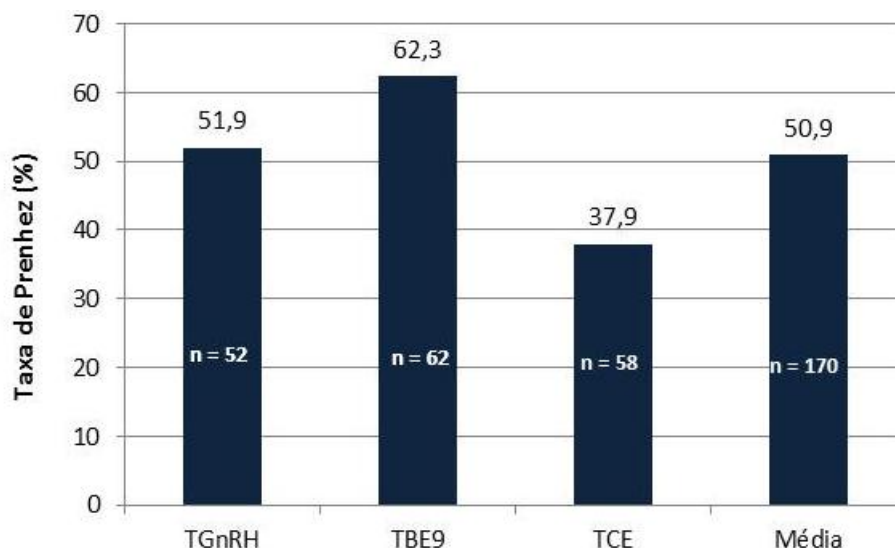


Figura 6 – Taxa de prenhez em função do tratamento ($P > 0,05$).

Entretanto, há pesquisadores que relatam maiores taxas de prenhez nas vacas tratadas com estrógeno (CERRI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2011) ou nas tratadas com GnRH (VASCONCELOS *et al.*, 1999; SÁ FILHO *et al.*, 2010a), assim os resultados encontrados quanto a diferentes indutores se contradizem.

O estradiol exógeno, tanto o CE como o BE, administrados na remoção do dispositivo de progesterona, ou 24 horas após, é eficaz em aumentar a proporção de vacas que apresentam estro antes da IATF, além da taxa de prenhez em vacas *Bos taurus indicus* (SÁ FILHO *et al.*, 2011), *Bos taurus taurus* (GOTTSCHALL *et al.*, 2012), e mestiças (BARBOSA *et al.*, 2011). A administração de 1 mg de CE ou de 1 mg de BE é capaz de induzir comportamento estral em vacas ovariectomizadas (CERRI *et al.*, 2004), e aumentar a concentração de estradiol no soro das vacas com concentrações semelhantes às verificadas em vacas com estro natural (PERRY & PERRY, 2008a; PERRY & PERRY, 2008b). Vacas que apresentaram estro antes da IATF exibem melhores taxas de prenhez devido a melhores respostas ovarianas, como maior diâmetro do folículo ovulatório, taxa de ovulação, maior tamanho do corpo lúteo, e maiores concentrações circulantes de P4 após IATF, em *Bos taurus indicus* (PERES *et al.*, 2009; MENEGHETTI *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.*, 2010b; SÁ FILHO *et al.*, 2011) e *Bos taurus taurus* (CERRI *et al.*, 2004; PERRY *et al.*, 2005; PERRY *et al.*, 2007; HILLEGASS *et al.*, 2008).

Outro fator que também pode ser citado como responsável pelo estrógeno exógeno aumentar as taxas de prenhez deve-se a essa maior exposição do estrógeno

durante o proestro com a finalidade de melhorar a fertilização, e também influenciar a morfologia endometrial, preparando o útero para fase lútea subsequente (CERRI *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2011). Este condicionamento pode ser importante para a indução de receptores de progesterona do endométrio (ZELINSKI & STORNSHAK, 2004) e para evitar a luteólise prematura e ciclos curtos (KIEBORZ-LOOS *et al.*, 2003).

Em relação à utilização dos diferentes tipos de estrógeno, CE e BE, não foi observado diferenças neste estudo. Em pesquisa recente, Meneghetti *et al.* (2009) e Sales *et al.* (2012) confirmaram a premissa de que a utilização de CE no momento da retirada do dispositivo de progesterona é tão eficaz quanto a utilização do BE 24 horas após a retirada em vacas *Bos taurus indicus*, submetidas a protocolo de IATF similar ao utilizado neste estudo, em que se avalia a resposta ovariana e a fertilidade das vacas. Pode-se, assim, diminuir um manejo na aplicação do protocolo de IATF em vacas mestiças.

Todavia, apesar dos efeitos positivos do estrógeno exógeno sobre a fertilidade, citadas por esses autores, Souza *et al.* (2009), encontraram resultados semelhantes aos deste estudo, em que não houve diferença entre os indutores de ovulação em vacas de leite. De igual modo, Baruselli *et al.* (2003) e Marques *et al.* (2003) também não verificaram diferença quanto à taxa de prenhez, quando foi comparado o BE no dia 9 do protocolo ou o GnRH no momento da IA, como neste estudo, de fêmeas *Bos taurus indicus* (BE = 59,9% (n=182); GnRH=61,6% (n=203)) e *Bos taurus taurus* (BE = 60,1% (n=188); 59,0% (n=222)).

Segundo Sá Filho *et al.* (2010c), o tratamento com GnRH aumenta a sincronia da ovulação e as taxas de prenhez de vacas submetidas à IATF. Este resultado está de acordo com os relatados por Vasconcelos *et al.* (1999), quando o tratamento com GnRH foi administrado 30 horas após a remoção de um implante de progesterona. A melhoria da sincronização da ovulação por tratamento com GnRH é, provavelmente, devida a dois fatores principais, segundo julga-se: (1) a indução de um pico pré-ovulatório de LH mais uniforme, e (2) a aceleração da ovulação. Troxel *et al.* (1993) relataram que a administração de GnRH 30 horas após a remoção do implante de P4 aumentou as taxas de prenhez em vacas *Bos taurus taurus* submetidas à IATF (46% versus 18%; TGnRH versus Tcontrole, respectivamente).

Pode-se pressupor que a não diferença entre os parâmetros avaliados deve-se ao fato de que em todos os tratamentos foi administrado 400 UI de eCG nas vacas no momento da retirada do DIP, o que aumenta a produção de estradiol pelo folículo,

aumentando, também, o estradiol circulante em todos os tratamentos (SÁ FILHO et al., 2010 a, b), assim as vacas apresentam maior atividade estral independente do indutor de ovulação (PEREA et al., 2008; VILELA et al., 2008; PULLEY et al., 2013).

Entendeu-se que a taxa de prenhez média foi satisfatória quando comparadas às de outros autores. Segundo Sá Filho et al. (2009), no geral, a taxa de prenhez média obtida após protocolos de sincronização da ovulação à base de progesterona e estrógeno é de 49,6% por serem influenciadas pelo local da fazenda, manejo, raça (*Bos taurus taurus*, *Bos taurus indicus*, e *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*), categoria (nulípara, primípara ou múltipara), e escore de condição corporal (ECC) no momento da realização do protocolo.

Adicionalmente avaliou-se a influência da condição corporal na taxa de prenhez neste estudo, e não foi detectado efeito do ECC sobre a taxa de prenhez ($P>0,05$; Figura 7). Estudos prévios observaram que, com o aumento do ECC, há um aumento na taxa de prenhez em vacas *Bos taurus taurus* (HILLEGASS et al., 2008; SANTOS et al., 2009; GOTTSCHALL et al., 2012) e *Bos taurus indicus* (MENEGHETTI et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2010b).

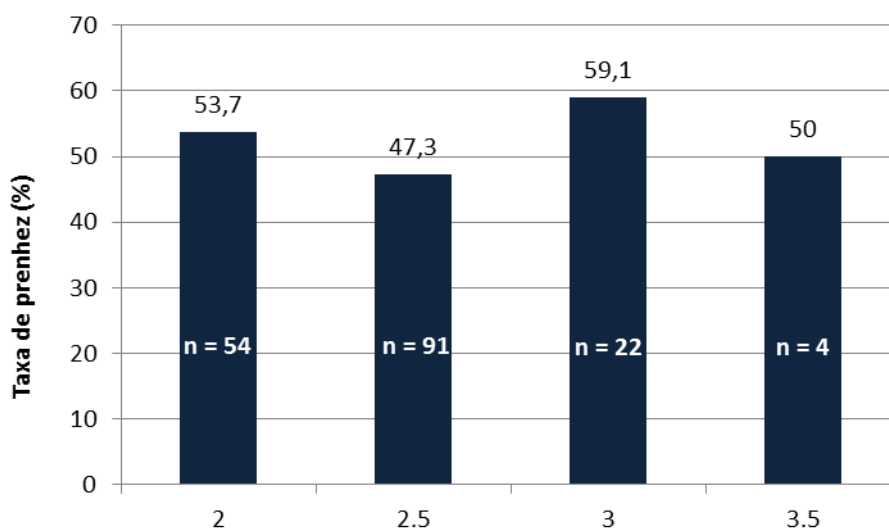


Figura 7 –Taxa de prenhez em função do ECC ($P>0,05$).

O eCG fornece apoio gonadotrófico para o desenvolvimento folicular final (SÁ FILHO et al. 2010a; SÁ FILHO et al., 2010b), sendo eficaz em aumentar a taxa de crescimento do folículo dominante, o diâmetro do folículo dominante na IATF, e a taxa de ovulação das vacas submetidas a protocolos (BARUSELLI et al., 2004; BÓ et al., 2007; SÁ FILHO et al., 2009) e as concentrações de P4 durante o diestro posterior

(MARQUES *et al.*, 2003; SOUZA *et al.*, 2009; SÁ FILHO *et al.* 2010a; SÁ FILHO *et al.*, 2010c), e também eficaz em aumentar as taxas de prenhez, principalmente em animais em anestro, de baixo ECC, e com poucos dias pós-parto (CAVALIERI *et al.*, 1997; MARQUES *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2004; BARUSELLI *et al.*, 2006; AYRES *et al.*, 2007; ROSSA *et al.*, 2009).

A soma desses efeitos positivos pôde beneficiar as vacas em anestro nesse experimento, que é altamente correlacionado com o baixo ECC (BARUSELLI *et al.*, 2003; BARUSELLI *et al.*, 2004; AYRES *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2007; ROSSA *et al.*, 2009), não diferindo, assim, a taxa de prenhez entre os diferentes ECC.

Um melhor entendimento dos diferentes indutores de ovulação quanto à sincronia da ovulação e momento da inseminação em protocolos de IATF deve ser pesquisado, para que se possa utilizar com maior segurança outras tecnologias, como a utilização de sêmen sexado em protocolos de IATF (SALES *et al.*, 2011).

Apesar das diferenças farmacológicas entre os três agentes indutores da ovulação estudados, todos foram eficazes na indução de ovulações sincronizadas e na fertilidade adequada nas vacas *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* lactantes submetidas a protocolo de sincronização da ovulação à base de progesterona e estrógeno. No entanto, a utilização de CE ou de GnRH, permite a redução no número de vezes que as vacas devem ser manejadas sem a redução da fertilidade, quando comparada com a de BE. Esta é também uma característica desejável para aumentar a adoção e propagação da IATF.

4. Conclusão

A administração dos diferentes indutores da ovulação, benzoato de estradiol, cipionato de estradiol, e GnRH, em protocolo de IATF em vacas mestiças não alteram os padrões avaliados de dinâmica folicular e taxa de prenhez.

5. Referências Bibliográficas

AYRES. H.; MARQUES, M.O.; SILVA, R.C.P.; *et al.* Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós-parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.35, n.3, p.113, 2007.

- AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M. *et al.* Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v.109, p.77-87, 2008.
- AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; CUNHA, A.P., *et al.* Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: Effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. **Theriogenology**, v.79, p.159–164, 2013.
- BARBOSA, C.F.; JACOMI, J.O.; DINIZ, E.G.; Inseminação artificial em tempo fixo e diagnóstico precoce de gestação em vacas leiteiras mestiças. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.79-84, 2011.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; *et al.* Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, p.214, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82, p.479-486, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E. L.; CARVALHO, N. A. T.; *et al.* eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION 14., 2004, Porto Seguro. **Proceedings....** v.1, p.117. 2006
- BÓ, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestagen and estradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, p.193–204, 1995.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, p. 307-326, 2003.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; PERES, L.C.; *et al.* Technologies for fixed-time artificial insemination and their influence on reproductive performance of *Bos indicus* cattle. **Societ Reprodroduction Fertility**, v.64, p.223–36, 2007
- BRUSVEEN, D.J.; SOUZA, A.H.; WILTBANK, M.C. Effects of additional prostaglandin F-2 alpha and estradiol-17 beta during Ovsynch in lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**, p.92, v.1412–22, 2009.
- BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E. *et al.* Day, Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrous and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal Reproduction Science**, v.66, p.161–174, 2001.
- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; *et al.* Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v 14, p. 847:801. 1997.
- CERRI, R.L.A.; SANTOS, J.E.P.; JUCHEM, S.O.; *et al.* Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.87, p.3704 –15, 2004.
- 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.; AMBROSEA, D.J. Neither duration of progesterone insert nor initial GnRH treatment affected pregnancy per timed-insemination in dairy heifers subjected to a Co-synch protocol. **Theriogenology**, v.76, p. 578–588, 2011.
- COLAZO, M.G.; BÓ, G.A.; ILLUMINATI, H. *et al.* Fixed-time artificial insemination in beef cattle using CIDR-B devices, progesterone and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.51, p.404, 1999.
- COLAZO, M.G.; DOUREY, A.; RAJAMAHENDRAN, R.; *et al.* Progesterone supplementation before timed AI increased ovulation synchrony and pregnancy per AI, and supplementation after timed AI reduced pregnancy losses in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.79, p. 833–841, 2013.
- CORE TEAM. A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.2013.
- CREPALDI G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. São Paulo 2009. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária. 88p. 2009.
- FERREIRA, M.A.; CASTRO, A.C.G.; CAMPOS, J.M.S. Sistemas de aleitamento de bezerros. 1. Desempenho das vacas. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.4, p.723-728, 1996.
- GOTTSCHALL, C.S.; ALMEIDA, M.R.; TOLOTTI, F.; *et al.* Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos... **Acta Scientiae Veterinariae**.v.40(1), p. 1012. 2012.
- GUMEN, A.; KESKIN, A.; YILMAZBAS-MECITOGU, G.; *et al.* Effect of presynchronization strategy before Ovsynch on fertility at first service in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.78, p.1830–1838, 2012.
- HILLEGASS, J.; LIMA, F.S.; SÁ FILHO, M.F.; *et al.* Effect of time of artificial insemination and supplemental estradiol on reproduction of lactating dairy cows. **Journal Dairy Science**. v. 91, p.4226–37, 2008.
- KASIMANICKAMA, R.; ASAYA, M.; FIRTHA, P.; *et al.* Artificial insemination at 56 h after intravaginal progesterone device removal improved AI pregnancy rate in beef heifers synchronized with five-day CO-Synch _ controlled internal drug release (CIDR) protocol. **Theriogenology**, v.77, p.1624–1631, 2012.
- KIEBORZ-LOOS, K.R.; GARVERICK, H.A.; KEISLER, D.H.; *et al.* Oxytocin-induced secretion of prostaglandin F2 α in postpartum beef cows: effects of progesterone and estradiol-17 β treatment. **Journal Animal Science**, v.81, p.1830–6, 2003.
- LAMMOGLIA, M.A; SHORT, E.E; BELLOWS, S.E. *et al.* Induced and synchronized estrus in cattle: Dose titration of Estradiol benzoate in peripubertal heifers and a post partum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1662-1670, 1998.

- MACMILLAN, K.L.; SEGWAGWE, B.V.E.; PINO, C.S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.327–44, 2003.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; *et al.* The regulatory of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. **Journal Reproduction Fertility**. v.54, p.317–28, 1999.
- MARQUES, M. O.; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S.; *et al.* Increased pregnancy rates in *Bos taurus* × *Bos indicus* embryo recipients with treatments to increase plasma progesterone concentration. **Theriogenology**, v. 59, p. 369. 2003.
- MARTÍNEZ, G. *et al.* Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96h calf removal. **Theriogenology**, v.57, p.1503-1510, 2002.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; COLAZO, M.G. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. **Domestic animals Endocrinologist**, v.33; p.33:77–90, 2007.
- MELO, L.C. Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos da sincronização da ovulação. **Dissertação**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Faculdade de veterinária. 41p., 2009.
- MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G. *et al.* Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179-189, 2009. MORENO *et al.*, 2001
- MURTA, J.E.J. Controle farmacológico da onda folicular em vacas nelore associando acetato de melengestrol, prostaglandina e gonadorelina. **Tese**. Departamento de Zootecnia. Universidade Federal de Minas Gerais. 2011.
- NASCIMENTO, V.A. **Inseminação artificial em tempo fixo e transferência de embriões na eficiência reprodutiva de fêmeas bovinas**. Tese (Departamento de Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa – MG. 2009, 178p.
- PEREA, F.P.; DEONDIZ, A.D.; PALOMARES, R.A.; *et al.* Control of postpartum anestrus with an intravaginal progesterone device plus eCG or calf removal for 120 h in suckled crossbred cows managed in a pasture-based system. **Animal Reproduction Science**, v.106, p.298–310, 2008.
- PERES, R.F.; CLARO, I.JR. SÁ FILHO, O.G.; *et al.* Strategies to improve fertility in *Bos indicus* post pubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.72, p.681–9, 2009.
- PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; LUCY, M.C.; *et al.* Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. **Proc Natl Acad Sci**, U S A, v.102, p.5268–73, 2005.
- PERRY, G.A.; SMITH, M.F.; ROBERTS, A.J. *et al.* Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifer. **Journal of Animal Science**, v.85, p.684–689, 2007.
- PERRY, G.A.; PERRY, B.L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v.34, p.333–8, 2008a.

- PERRY, G.A.; PERRY, B.L. Effects of standing estrus and supplemental estradiol on changes in uterine pH during a fixed-time AI protocol. **Journal Animal Science**, v.86, p.2928–35, 2008b.
- PULLEY, S.L.; WALLACE, L.D.; MELLIEON JR. J.S.; *et al.* Ovarian characteristics, serum concentrations of progesterone and estradiol, and fertility in lactating dairy cows in response to equine chorionic gonadotropin. **Theriogenology**, v.79, p.127–134, 2013.
- ROELOFS, J. B.; GRAAT, E. A. M.; MULLAART, E. *et al.* Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, p. 2173–2181, 2006.
- ROSSA, L.A.F.; BERTAN C.M.; ALMEIDA, A.B.; *et al.* Efeito da eCG ou benzoato de estradiol associado ao norgestomet na taxa de concepção de vacas de corte submetidas à IATF no pós-parto. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 46, n. 3, p. 199-206. 2009.
- RUAS, J.R.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. Indução do estro no pós parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.476-484, 2008.
- SÁ FILHO, M. F.; AMARAL, J. P. B.; MANTOVANI, A. P.; *et al.* Effect of synthetic progesterone (Afisterone®) administration at the moment of CIDR® insertion on follicular wave emergence in beef heifers. In: INTERNATIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 1., 2004, Porto Seguro. **Proceedings...** Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, p. 127. 2004.
- SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; *et al.* Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin- releasing hormone enhance fertility in a norgestomet based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p.651-658, 2010b.
- SÁ FILHO, M.F.; CRESPILO, A.M.; SANTOS, J.E.P.; *et al.* Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cow. **Animal Reproduction Science**, v.120, p.120-123, 2010c.
- SÁ FILHO, M.F.; SANTOS, J.E.P.; FERREIRA, R.M.; *et al.* Importance of estrus on pregnancy per insemination in suckled *Bos indicus* cows submitted to estradiol/progesterone-based timed insemination protocols. **Theriogenology**. v.76, p.455–463, 2011.
- SÁ FILHO, M.F.; TORRES-JÚNIOR, JR.S.; PENTEADO, L.; *et al.* Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.118:182–7. 2010.
- SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; MAIO, J.R.G.; *et al.* Perfil de liberação de LH após o tratamento com cipionato de estradiol em novilhas Nelore ovariectomizadas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1028, 2007.
- SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; CARVALHO, J.B.P.; *et al.* Perfil de liberação de LH após o tratamento com cipionato de estradiol em novilhas Nelore ovariectomizadas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, p. 1028. 2008

- SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; GIROTTO, R.W., *et al.* Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science** (Print), v. 124, p. 1-7. 2011
- SALES, N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; *et al.* Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, v.78, p.510–516, 2012.
- SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk Factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.110, p.207-221, 2009.
- SANTOS, J.E.P.; RUTIGLIANO, H.M.; SÁ FILHO, M.F. Risk Factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.110, p.207-221, 2009.
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P.; *et al.* Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, n.65, v.5, p.1403-1409, 2001.
- SAS: SAS/STAT® 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc. **SAS Institute Inc.**, 2002.
- SOUZA, A.H.; GUMEN, A.; SILVA, E.P.B.; *et al.* Supplementation with estradiol-17 beta before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, v.90, p.4623–34, 2007.
- SOUZA, A.H.; SILVA, E.P.B.; CUNHA, A.P.; *et al.* Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. **Theriogenology**, v.75, p.722–33, 2011.
- SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A. *et al.* Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, n.1, p.10-21, 2009.
- TEIXEIRA, A.A.; **Impacto da inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de leite de alta produção.** São Paulo. **Dissertação.** apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de mestre em Ciências. 71p. 2010.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. *et al.* Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.55, n.1, p.75-90, 2001.
- TORRES, C.A.A.; OLIVEIRA, F.A.; NASCIMENTO, V.A.; *et al.* TAI protocol with FSH-P for cyclic and anestrus crossbred cows. In: XIX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 2011, Recife. **Anais do XIX Congresso de Reprodução Animal**, v. 19. p.90-90, 2011.
- TROXEL, T.R.; CRUZ, L.C.; OTT, R.S.; *et al.* Norgestomet and gonadotropin-releasing hormone enhance corpus luteum function and fertility of postpartum suckled beef cows. **Journal Animal Science**, v.71, p.2579–85, 1993.
- VASCONCELOS, J. L. M.; SILCOX, R. W.; PURSLEY, J. R.; WILTBank, M. C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after

- synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, p. 1067–1078. 1999.
- VASCONCELOS, J.L.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; *et al.* Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v. 15, p. 307–14, 2011.
- VILELA, E.R.; MARTINS, Jr.A.P. Effect of ECP and/or eCG inclusion on synchronization protocol based on progesterone and GnRH as ovulatory stimuli in Nellore and crossbred Nellore x Angus heifers. **Acta Science Veterinary**, Suppl. 2, s640, 2008.
- VYNCKIER, L.; DEBACKERE, M.; KRUIF, A.; *et al.* Plasma estradiol-17_β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17_β benzoate and estradiol-17_β cypionate - a preliminary study Plasma estradiol-17_β concentrations in the cow during induced estrus and after injection of estradiol-17_β benzoate and estradiol-17_β cypionate—a preliminary study. **Journal Vet Pharmacol Ther**, 13:36–42. 1990.
- ZELINSKI, M.B.; STORNSHAK, F. Temporal relationships between endometrial RNA polymerase activities and steroid hormone receptors following estradiol administration during the mid luteal phase of the ovine estrous cycle. **Biology Reproductive**, v..24, p.119 –24, 2004.

4. CONCLUSÕES GERAIS

A administração de rbST em protocolo de sincronização de ovulação em vacas mestiças não apresentou diferenças marcantes nos padrões avaliados de dinâmica folicular. A taxa de prenhez global no trabalho foi satisfatória; porém, das vacas que receberam rbST, as em anestro apresentaram menor taxa de prenhez.

A administração de suplemento de aminoácidos e polipeptídeos em protocolo de sincronização de ovulação em vacas mestiças não apresentou diferenças marcantes nos padrões avaliados de dinâmica folicular, entretanto foi capaz de aumentar a taxa de prenhez das vacas cíclicas e em anestro.

A administração de FM em fêmeas mestiças, novilhas e vacas lactantes, como estratégia adicional para aumentar as taxas de prenhez após realização de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo não foi eficaz.

A administração dos diferentes indutores da ovulação, BE, CE, e GnRH, em protocolo de IATF em vacas mestiças não apresentou diferenças nos padrões avaliados de dinâmica folicular e da taxa de prenhez.