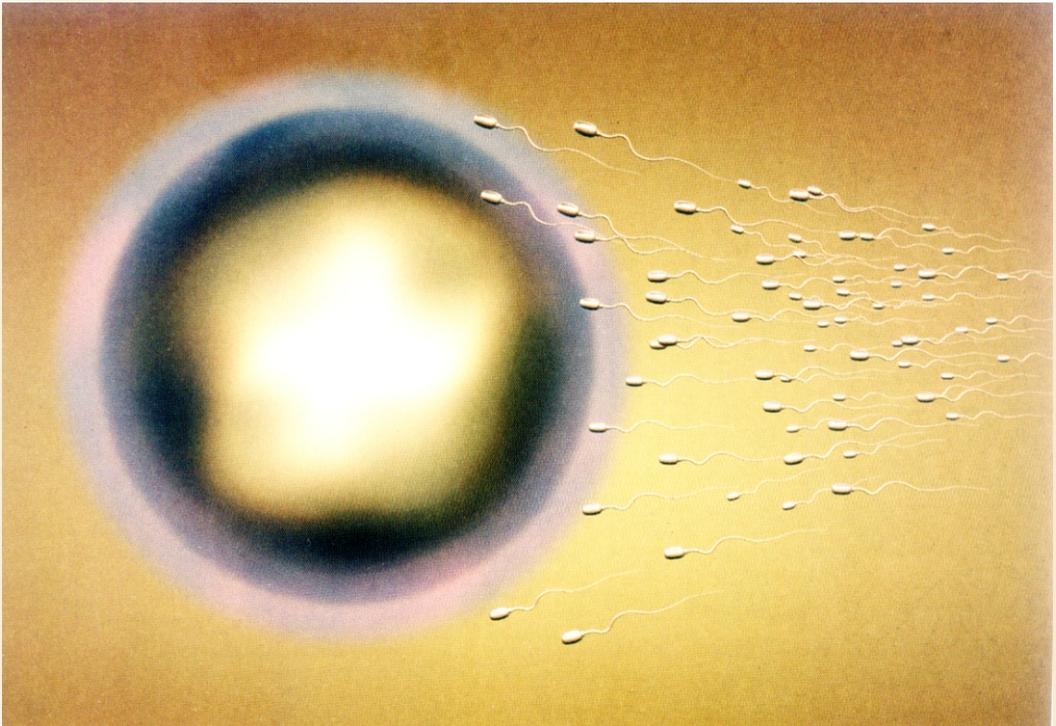


Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 7

ISSN 1981-2078
Dezembro, 2006

Sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore e seus efeitos na função ovariana



Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 7

Sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore e seus efeitos na função ovariana

Rui Machado
Rogério Taveira Barbosa
Marco Aurélio C. M. Bergamaschi
Cláudio Alvarenga de Oliveira
Mário Binelli

Embrapa Pecuária Sudeste

Rod. Washington Luiz, km 234

Caixa Postal 339

Fone: (16) 3361-5611

Fax: (16) 3361-5754

Home page: www.cppse.embrapa.br

E-mail: sac@cppse.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Alberto C. de Campos Bernardi

Secretário-Executivo: Edison Beno Pott

Membros: Carlos Eduardo da Silva Santos, Maria Cristina C. Brito,
Odo Primavesi, Sônia Borges de Alencar

Revisor de texto: Edison Beno Pott

Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar

Figura da capa: Manual de Inseminação Artificial - ASBIA (2001).

Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito

1ª edição on-line (2006)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação - CIP Embrapa Pecuária Sudeste

Rui Machado

Sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore e seus efeitos
na função ovariana / Rui Machado [et al.] — São Carlos: Embrapa
Pecuária Sudeste, 2006.

36 p. ; 21 cm.— (Embrapa Pecuária Sudeste. Boletim de Pesquisa
e Desenvolvimento, 7).

ISSN: 1981-2078

1. gado de corte - Raça Nelore - Ovulação - Sincronização I.
Machado, Rui. II. Barbosa, Rogério T. III. Bergamaschi, Marcos
A.C.M. IV. Oliveira, Cláudio C. de. V. Binelli, Mario. VI. Título.
VII. Série.

CDD 366.0824

Sumário

Introdução	9
Revisão de Literatura	9
Resultados e Discussão	19
Conclusão	30
Referências Bibliográficas	31

Sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore e seus efeitos na função ovariana

Rui Machado¹

Rogério Taveira Barbosa²

Marco Aurélio C. M. Bergamaschi³

Cláudio Alvarenga de Oliveira⁴

Mário Binelli⁵

Resumo

A sincronização da ovulação é usada para efetuar a inseminação artificial em tempo fixo, porém os protocolos para induzir a ovulação apresentam resultados variáveis. Avaliaram-se três tratamentos para indução da ovulação em 100 vacas da raça Nelore em atividade estral, as quais foram submetidas a três protocolos: à base de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ou à base de progestágeno e estrógeno, com ou sem gonadotrofina coriônica eqüina (eCG). A dinâmica ovariana (ultra-sonografia) e a concentração plasmática de progesterona foram obtidas diariamente durante um ciclo estral. Os tratamentos induziram

¹ Med. Vet., Dr., Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, km 234, CEP 13560-970, São Carlos, SP. Endereço eletrônico: <rui@cnpse.embrapa.br>.

² Med. Vet., Dr., Embrapa Pecuária Sudeste, Rod. Washington Luiz, km 234, CEP 13560-970, São Carlos, SP. Endereço eletrônico: <rogerio@cnpse.embrapa.br>.

³ Med. Vet., Dr., Rua 7 de Setembro, 2875 CEP 13560-000, São Carlos, SP. Endereço eletrônico: <markokeko@yahoo.com.br>.

⁴ Méd. Vet., Dr., Prof., Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87 - CEP 05.508-000 - São Paulo, SP. Endereço eletrônico: <cadolive@usp.br>

⁵ Eng. Agr. Ph. D., Prof., Dr., Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Av. Duque de Caxias Norte, 225 - CEP 13635-900 - Pirassununga, SP. Endereço eletrônico: <binelli@usp.br>

eficientemente a sincronização da ovulação (62,5%, 70,0% e 70,0%, respectivamente, com GnRH-PGF_{2α}, progestágeno e progestágeno-eCG). Contudo, nenhum deles reprogramou a função folicular subsequente. O aumento na progesterona circulante após a aplicação de GnRH-PGF_{2α} foi retardado, o que pode ser danoso ao transporte embrionário, ao reconhecimento materno da prenhez e à manutenção da gestação. A eCG não aumentou a taxa de ovulação ou o diâmetro do folículo pré-ovulatório, mas teve ação luteotrófica, caracterizada por aumento nas dimensões do corpo lúteo e na concentração da progesterona circulante no ciclo estral subsequente, o que pode favorecer o reconhecimento materno da gestação. A eCG deve fazer parte do protocolo de indução da ovulação quando se objetiva otimizar a função luteínica.

Termos para indexação: Corpo lúteo, eCG, indução da ovulação, Nelore, progesterona.

Effects of the synchronization of ovulation on the ovarian function in Nelore cows

Abstract

Synchronization of ovulation is a tool to carry on timed artificial insemination. However, available protocols to induce ovulation provide variable results. In this study, three treatments to induce ovulation in 100 Nelore cyclic cows were evaluated. Females were submitted to the following protocols: administration of gonadotrophin release hormone (GnRH) and prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) or based on the combination between progestogen and estradiol, with or without equine chorionic gonadotrophin (eCG). Ovarian dynamics was assessed by ultra-sound and circulating progesterone was measured daily over a complete estrous cycle. All treatments efficiently induced a synchronized ovulation (62.5%, 70.0% and 70.0% for GnRH- $PGF_{2\alpha}$, progestogen and estradiol, with and without eCG, respectively). However, no treatment was capable to reschedule subsequent follicular activity. GnRH- $PGF_{2\alpha}$ showed a delayed increase in progesterone concentration after synchronized ovulation, which may be potentially hazardous to

embryo transport, maternal recognition of pregnancy and maintenance of gestation. Ovulation rate and diameter of the pre-ovulatory follicle were both not affected by eCG, which promoted a luteotrophic effect once it increased dimensions of the corpus luteum and the concentration of progesterone over the subsequent estrous cycle. Therefore, eCG is indicated to compose the protocol to induce ovulation when luteal function is to be optimized.

Index terms: Corpus luteum, eCG, induction of ovulation, Nelore, progesterone.

Introdução

As dificuldades para a precisa detecção do estro (Pinheiro *et al.*, 1998) e a laboriosa tarefa de separar dentro de grandes rebanhos as fêmeas a serem inseminadas são os principais obstáculos para a adoção da inseminação artificial em bovinos de corte. Como resultado, a eficiência reprodutiva de rebanhos de corte em que se usa inseminação artificial em geral é baixa, pois as taxas de serviço são insatisfatórias. A indução hormonal da ovulação é uma biotécnica que objetiva controlar a ovulação, de modo a permitir a realização da inseminação artificial em tempo fixo (IA_{TF}). Entretanto, os protocolos de indução nem sempre provocam ovulações sincronizadas o suficiente para lograr fertilização bem-sucedida após a IA_{TF} . Além disso, a função luteínica subsequente à ovulação induzida pode ser subnormal e comprometer o reconhecimento materno da prenhez e a taxa de fertilidade após a IA_{TF} .

O presente estudo objetivou avaliar os efeitos de três tratamentos hormonais sobre a indução da ovulação e sobre a função folicular e a função luteínica em vacas da raça Nelore.

Revisão de literatura

Pinheiro *et al.* (1998) verificaram que o período de estro das fêmeas zebuínas, componente majoritário do rebanho de corte nacional, tem curta duração. Esse período é de $10,5 \pm 0,4$ h em vacas da raça Nelore. Além disso, esses autores observaram que 54% dessas vacas iniciaram o estro no período da noite e que 30% delas já haviam encerrado o cio durante a

madrugada, reduzindo ainda mais a eficiência de identificação do estro.

Portanto, aumentar a taxa de serviço é uma meta imperativa quando se objetiva elevar a eficiência reprodutiva, uma vez que a taxa de prenhez é o produto da taxa de serviço e da taxa de concepção. Neste cenário insere-se a indução da ovulação, a qual permite efetuar a inseminação artificial em tempo fixo e aumentar a taxa de serviço para 100%. Uma vez obtidas altas taxas de serviço, é importante assegurar a fertilização do ovócito. Caso a inseminação ocorra em perfeita sincronização com a ovulação, verificam-se elevadas taxas de fertilização, com valores próximos a 100% (Diskin & Sreenan, 1980; Breuel et al., 1993).

Em rebanhos bovinos destinados à reprodução, espera-se encontrar certa proporção de vacas em anestro; essas vacas requerem tratamento diferenciado para a indução de ovulação que permita o serviço fértil. Entretanto, quando se aplicam protocolos hormonais à IA_{TF}, podem ocorrer alterações da função ovariana, tais como ovulação não sincronizada, fase luteínica de curta duração, corpo lúteo com pouca capacidade para produção de progesterona e, conseqüentemente, ciclo estral curto, o que compromete o desenvolvimento do concepto e a manutenção da gestação (Stagg *et al.*, 1995). Para que ocorra um ciclo estral de características normais, Webb *et al.* (1980) demonstraram que este ciclo deve ser precedido por um período de concentração elevada de progesterona circulante. Portanto, o protocolo de indução da ovulação deve abranger este preceito (Breuel *et al.*, 1993).

Os principais métodos para a indução do estro e da ovulação são baseados no uso de: a) prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ou seus análogos; b) progesterona (ou progestágenos) em dispositivos de liberação lenta associados aos estrógenos e c) hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH) associado à prostaglandina. Entretanto, a despeito de significativos avanços, as manipulações hormonais do ciclo estral que precedem a IA_{TF} ainda produzem resultados variáveis na fertilidade de raças zebuínas (Bó *et al.*, 2003).

Os procedimentos que utilizam exclusivamente a $PGF_{2\alpha}$ têm várias limitações, pois sua eficiência depende da presença de um corpo lúteo funcional. Deste modo, ela não atua em animais em anestro e freqüentemente não sincroniza adequadamente o estro, que é manifestado em até seis dias após o tratamento das vacas em atividade estral (MacMillan & Henderson, 1984). De fato, a sincronização da ovulação é influenciada não só pela resposta do corpo lúteo à $PGF_{2\alpha}$ (Momont & Seguin, 1984), como também pelo estágio de desenvolvimento do folículo dominante presente na hora do tratamento (Kastelic & Ginther, 1991). Esta variabilidade entre o tratamento e a ovulação torna este programa inviável na IA_{TF} , pois requer a observação do estro para obter altas taxas de prenhez (Bó *et al.*, 2003). Com efeito, apesar de 80% a 100% de vacas tratadas com $PGF_{2\alpha}$ apresentarem regressão luteínica, somente de 29% a 60% foram detectadas em estro e 51% ovularam (Alonso *et al.*, 1995).

Os tratamentos com progestágenos associados ao estradiol apresentam vantagens sobre outros programas de sincronização da ovulação, uma vez que previnem a formação de um corpo lúteo de curta duração (Breuel *et al.*, 1993); eles podem ser utilizados em qualquer fase do ciclo estral, sem prejuízo na sua eficiência (Bó *et al.*, 1995) e induzem vacas em anestro a ovular (McDougall *et al.*, 1995). O mecanismo de liberação gradual da progesterona promove o crescimento e a maturação do folículo dominante e torna-o capaz de ovular, mesmo em animais em anestro (Rhodes *et al.*, 2002). A formação de um corpo lúteo de curta duração é prevenida pela progesterona liberada pelo dispositivo hormonal (Breuel *et al.*, 1993). Desta forma, a ovulação precedida pelo tratamento com progesterona estimula a formação de um corpo lúteo com atividade normal e permite o desenvolvimento e a manutenção da prenhez (Wiltbank *et al.*, 2002). O estradiol induz a regressão luteínica e, por esta razão, foi incorporado aos tratamentos com progestágeno (ou progesterona). Posteriormente, foi constatado que o estradiol suprime o crescimento do folículo antral (Bó *et al.*, 1994). Para aumentar a taxa de prenhez em vacas zebuínas no período pós-parto (Cavaliere *et al.*, 1997; Bó *et al.*, 2003; Baruselli *et al.*, 2004b) foi realizada uma administração estratégica de 400 UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) no dia da remoção do implante de progestágeno (Bó *et al.*, 2002). Essa aplicação aumentou a concentração plasmática de progesterona (Marques *et al.*, 2003; Baruselli *et al.*, 2004b).

De acordo com Williams *et al.* (2002), com protocolos em que se utilizam GnRH associado à PGF_{2 α} , podem ser obtidas taxas de gestação em vacas zebuínas, semelhantes às observadas em vacas em atividade estral das raças européias (de 42% a 48%). Porém, a taxa de gestação em vacas em anestro é significativamente menor (14,9%) do que nas vacas em atividade estral (Williams *et al.*, 2002). Portanto, esses programas são inadequados para uso no rebanho geral, uma vez que é comum a alta incidência de anestro em vacas zebuínas mantidas em sistemas de pastejo em clima tropical (Alonso *et al.*, 1995; Cavalieri *et al.*, 1997; Pinheiro *et al.*, 1998), principalmente naquelas em lactação (Ruiz-Cortes & Olivera-Angel, 1999).

Com relação às perdas reprodutivas durante a gestação, Santos *et al.* (2004) inferiram que, em vacas inseminadas, a maioria dessas ocorrências registrava-se na fase embrionária. Essas ocorrências são classificadas como mortalidade precoce, que se dá até o período de manutenção do corpo lúteo, entre 15 (D₁₅) e 17 (D₁₇) dias após o estro, ou como mortalidade tardia, que se estende até a diferenciação do embrião (42 dias de prenhez). Diskin & Sreenan (1980) verificaram que a mortalidade embrionária, em vacas de corte de raças européias, ocorreu principalmente entre os dias 8 e 16 após a inseminação artificial e alcançou 30%. Peters (1996) relatou que as perdas embrionárias em bovinos são de aproximadamente 25%, nas primeiras três semanas de gestação, e Dunne *et al.* (2000) verificaram que a maioria das perdas pré-natais em novilhas de

corde ocorreu antes do 14^o dia da gestação. Kunz *et al.* (2002) encontraram taxas de mortalidade entre 20% e 40% até os dias 21 e 22 de prenhez em vacas de corte.

Pode-se concluir que existe relação entre a sobrevivência embrionária e a cronologia dos eventos fisiológicos envolvidos no estabelecimento da prenhez, manifestada por certos fatores, como a sinalização pelo embrião de sua presença no útero e o bloqueio da luteólise, fenômenos diretamente ligados à função luteínica no ciclo que sucede a inseminação artificial (Binelli & Thatcher, 1999). Este momento situa-se entre 15 e 19 dias após a inseminação artificial e é conceituado como o período crítico para o reconhecimento materno da prenhez. Deste modo, o reconhecimento materno da prenhez é um dos fatores-chave para se atingir elevada eficiência reprodutiva, compatível com os modernos sistemas de produção.

Binelli & Thatcher (1999) afirmaram que, durante o período crítico para o reconhecimento materno da prenhez, o endométrio segue uma programação preestabelecida para liberar pulsos luteolíticos da $PGF_{2\alpha}$, a menos que o concepto envie sinais antiluteolíticos, mediados por fatores parácrinos, como o interferon- τ , para bloquear a produção da $PGF_{2\alpha}$. Do contrário, ocorre a luteólise e o ciclo ovulatório é mantido, culminando com a interrupção da gestação (Mann & Lamming, 2001). De fato, durante o ciclo estral, os folículos ovarianos produzem quantidades crescentes de estradiol, à medida que eles aumentam de tamanho e se tornam dominantes (Komar *et al.*, 2001). O estradiol é capaz de estimular a produção de $PGF_{2\alpha}$ (Villa-Godoy *et al.*,

1985), por meio de um mecanismo de ação ainda não totalmente elucidado.

Mann & Lamming (1995) avaliaram a resposta luteolítica de vacas ovariectomizadas tratadas com duas dosagens de progesterona e observaram que os animais com baixa concentração plasmática de progesterona desenvolveram sinal luteolítico mais forte, expresso pela maior concentração do principal metabólito da $PGF_{2\alpha}$. Desta forma, concluíram que vacas com menor concentração plasmática de progesterona têm maior predisposição à perda embrionária. Com base nesses conceitos, é possível criar estratégias de manejo que envolvam as funções foliculares e as luteínicas, com o objetivo de reduzir a capacidade luteolítica e/ou de aumentar o estímulo luteotrófico da unidade materna. Estas ações promovem um ambiente uterino apropriado, para que o concepto possa secretar o interferon- τ de maneira adequada. Nesse cenário, é esperada mortalidade embrionária mais baixa, com reflexo direto nas taxas de concepção e de parição, e incremento real na reprodução do rebanho.

Material e métodos

O estudo foi desenvolvido na Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, região central do Estado de São Paulo (22° 01' Sul e 47° 54' Oeste), a 860 m de altitude. O clima é tropical, do tipo CwA, na classificação de Köppen, caracterizado por verão quente e inverno seco. A média da temperatura anual é de 21,3°C; a da umidade relativa do ar, de 77%; e a da precipitação pluvial, de 1353 mm.

Foram utilizadas 100 vacas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), com idade entre 5 e 11 anos, com pelo menos 150 dias pós-parto. As fêmeas tinham média de peso vivo de $412,7 \pm 33,9$ kg e média de escore de condição corporal (na escala de 1 a 9) de $5,5 \pm 0,5$. As vacas foram submetidas ao exame ginecológico por palpação retal e por ultra-sonografia transretal; foram utilizadas apenas aquelas portadoras de corpo lúteo ou folículo com diâmetro superior a 10 mm associado à turgidez uterina. O manejo adotado foi o sistema intensivo de pastejo em piquetes de capim-marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) e de capim-tanzânia (*Panicum maximum* cv. Tanzânia). Havia nos piquetes livre acesso a suplemento mineral e água.

As fêmeas foram estratificadas segundo a ordem de parto, o peso vivo e o escore de condição corporal, para distribuição aleatória e aplicação dos protocolos de sincronização da ovulação, a saber: **GnRH-PGF** (n = 40) – baseado nas aplicações por via intramuscular de 8 µg do Acetato de Buserelina® (agonista do GnRH), 0,150 mg de d-Cloprostenol® (análogo da $PGF_{2\alpha}$) sete dias mais tarde e outra aplicação de GnRH 48 h após esta última [protocolo idealizado por Pursley *et al.* (1995), denominado “OvSynch”]; **norgestomet** (n = 30) – constituído pelo uso intramuscular da solução com 5 mg de valerato de estradiol e 3 mg de norgestomet, simultaneamente ao implante de silicone com 3 mg de norgestomet, o qual foi inserido no tecido subcutâneo da orelha, onde permaneceu por nove dias; **norgestomet-eCG**

(n = 30) – o mesmo protocolo do tratamento **norgestomet**, acrescido da administração intramuscular de 400 UI de eCG na retirada do implante.

Após a segunda aplicação de GnRH (protocolo GnRH–PGF) ou a retirada do implante (protocolo norgestomet e norgestomet–eCG), foram conduzidos exames de ultrasonografia para a confirmação da ovulação, a qual foi caracterizada pelo desaparecimento do folículo dominante pré-ovulatório, que estava presente no exame anterior, e pela subsequente formação de um corpo lúteo. A data da ovulação foi considerada como o dia zero. Na avaliação da função ovariana do ciclo subsequente, formaram-se subamostras de cada grupo experimental. Para tanto, foram utilizadas exclusivamente vacas que responderam com ovulação sincronizada aos respectivos tratamentos. O exame ultrasonográfico foi realizado por via retal, seguindo a metodologia e os critérios descritos por Rocha (2000), com um aparelho da marca Aloka, modelo SSD 500, em modo B, acoplado a transdutor de 7,5 MHz. A dinâmica ovariana foi acompanhada até a ovulação seguinte.

Foi feita coleta de sangue diariamente até a ovulação natural subsequente, para a dosagem de progesterona plasmática por radioimunoensaio.

Os resultados foram analisados utilizando-se diversos procedimentos do programa SAS System for Windows (SAS, 2000). As variáveis discretas foram analisadas por análise de variância com o procedimento “General Linear Models”. As

variáveis contínuas foram submetidas à análise de variância com medidas repetidas no tempo por meio do procedimento "MIXED". Para estimar a variação da concentração de progesterona em função do dia do ciclo estral, foi feita análise de regressão com o procedimento "REG", e as variáveis tomadas como "taxas" foram expressas na forma de proporções e analisadas aplicando-se o teste do qui-quadrado (χ^2) do procedimento "FREQ".

As variáveis obtidas diariamente foram: concentração plasmática de progesterona e volume do corpo lúteo (pela fórmula: $V = 4\pi r^3$, em que r é o raio do corpo lúteo). Foram avaliados ainda: diâmetro do folículo pré-ovulatório sincronizado (mm); taxa de ovulação sincronizada (%); diâmetro do folículo pré-ovulatório do ciclo natural subsequente (mm); período interovulatório (dias); volume máximo do corpo lúteo (mm^3); dia do ciclo estral em que ocorreu o volume máximo do corpo lúteo; concentração plasmática de progesterona no dia do volume máximo do corpo lúteo; concentração máxima de progesterona; dia do ciclo estral em que ocorreu a concentração máxima de progesterona; diâmetro do folículo dominante no dia da luteólise; número de dias entre D_{13} e D_{19} do ciclo estral nos quais ocorreram folículos dominantes, em crescimento, com diâmetro maior do que 7 mm; número de dias entre D_{13} e D_{19} do ciclo estral nos quais ocorreram folículos dominantes, em crescimento, com diâmetro maior do que 8 mm; e duração da fase luteínica definida pelo número de dias com concentração plasmática de progesterona superior a 1,00 ng/

mL (Rocha, 2000). Considerou-se como o dia da luteólise aquele em que a concentração plasmática de progesterona foi inferior a 1,00 ng/mL.

Resultados e discussão

A avaliação ultra-sonográfica e a dosagem hormonal no ciclo natural subsequente foram realizadas apenas em vacas que ovularam. Desta forma, as subamostras formadas constituíram-se de sete, onze e onze vacas, respectivamente, nos grupos GnRH–PGF, norgestomet e norgestomet–eCG.

As variáveis relativas à função folicular e à função luteínica são mostradas, respectivamente, nas Tabelas 1 e 2. As variações da concentração de progesterona plasmática ao longo do ciclo estral constam na Figura 1. A concentração de progesterona esteve positivamente correlacionada ($P < 0,05$) com o volume do corpo lúteo ($r^2 = 0,55$). Ocorreu efeito de interação entre eCG e dia ($P < 0,01$) durante os primeiros doze dias do ciclo estral. A concentração plasmática de progesterona do grupo norgestomet–eCG foi mais alta ($P < 0,05$) nos dias 8, 9 e 12. Não houve efeito da eCG após os primeiros doze dias do ciclo estral.

O diâmetro do folículo pré-ovulatório sincronizado não foi influenciado pelos tratamentos. Resultados semelhantes foram observados por Marques *et al.* (2003). De acordo com Binelli *et al.* (2001), as dimensões do folículo ovulatório se relacionam diretamente ao tamanho do corpo lúteo gerado após

a ovulação. Neste contexto, a ovulação de folículos maiores deve gerar a formação de corpos lúteos também maiores (Binelli *et al.*, 2001), o que pode influenciar positivamente a função luteínica da vaca por meio da produção otimizada de progesterona. De fato, MacMillan *et al.* (2003) relataram que o uso do GnRH em programas de IA_{TF} induziu a ovulação de folículos pequenos e esteve associado à formação de corpos lúteos com capacidade esteroidogênica reduzida. A consequência foi a ocorrência de ciclos estrais de curta duração e a redução na taxa de concepção. Tal fenômeno não se repetiu no presente estudo, pois os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios do grupo GnRH-PGF estiveram próximos aos limites superiores de vacas da raça Nelore relatados por Figueiredo *et al.* (1997).

Analogamente, os tratamentos não diferiram com relação à taxa de ovulação sincronizada. Mesmo a adição de 400 UI de eCG não promoveu aumento nesta taxa, cujas variações observadas (62,5% a 70,0%) nos grupos encontram-se dentro dos limites relatados (Baruselli *et al.*, 2004b) e podem ser consideradas satisfatórias. A opção de adicionar a eCG ao protocolo norgestomet decorreu da conclusão de Baruselli *et al.* (2004b). Esses autores verificaram que os animais tratados com eCG responderam com incremento na taxa de ovulação sincronizada, o que potencialmente pode favorecer o aumento

Tabela 1. Médias dos quadrados mínimos (\pm erros-padrão da média) de variáveis relacionadas à dinâmica folicular de vacas da raça Nelore, em São Carlos, SP.

Variável	Protocolo de indução da ovulação ^c		
	GnRH PGF	Norgestomet	Norgestomet-eCG
Diâmetro do foliculo pré-ovulatório sincronizado (mm)	12,19 \pm 1,20	13,38 \pm 0,39	12,72 \pm 0,39
Taxa de ovulação sincronizada (%)	62,50	70,00	70,00
Dom 7 13 a 19 (dias) ^a	4,71 \pm 0,74	4,75 \pm 0,50	4,88 \pm 0,50
Dom 8 13 a 19 (dias) ^b	3,71 \pm 0,74	3,88 \pm 0,55	4,50 \pm 0,55
Período interovulatório (dias)	24,14 \pm 1,27	21,38 \pm 0,57	21,75 \pm 0,57
Diâmetro do foliculo pré-ovulatório natural subsequente (mm)	12,88 \pm 0,56	13,45 \pm 0,50	13,25 \pm 0,50

^a Intervalo entre D₁₃ e D₁₉ sob a influência de um foliculo dominante de 7 mm.

^b Intervalo entre D₁₃ e D₁₉ sob a influência de um foliculo dominante de 8 mm.

^c GnRH-PGF: aplicações intramusculares de GnRH + análogo da PGF_{2 α} sete dias depois + GnRH 48 h mais tarde. Norgestomet: uso intramuscular da solução com 5 mg de valerato de estradiol e 3 mg de norgestomet, simultaneamente à colocação de implante subcutâneo com 3 mg de norgestomet, onde permaneceu por nove dias. Norgestomet-eCG: o mesmo protocolo do tratamento norgestomet + administração intramuscular de 400 UI de eCG na retirada do implante.

da taxa de prenhez após a IA_{TF}. As taxas de ovulação dos grupos tratados ou não com eCG foram iguais entre si e semelhantes aos 76% (Marques *et al.*, 2003) ou aos 73,1% (Sá Filho *et al.*, 2004) observados em vacas da raça Nelore. Como esses autores utilizaram vacas em anestro nos seus experimentos, especula-se que, na presente pesquisa, a gonadotrofina não tenha afetado a taxa de ovulação em razão da condição ovariana prévia em que os animais se encontravam (vacas em atividade estral).

Tabela 2. Médias dos quadrados mínimos (\pm erros-padrão da média) de variáveis relacionadas à dinâmica luteínica de vacas da raça Nelore, em São Carlos, SP.

Variável	Protocolo de indução da ovulação ^{1,2}		
	GnRH PGF	Norgestomet	Norgestomet+eCG
Volume máximo do corpo lúteo (mm ³)	7117,28 \pm 25,67 ^a	5437,81 \pm 405,86 ^b	6927,49 \pm 05,86 ^a
Dia do ciclo com o volume máximo do corpo lúteo	14,42 \pm 0,64 ^a	7,68 \pm 0,47 ^c	9,18 \pm 0,47 ^b
[P ₄] ³ no dia do volume máximo do corpo lúteo (ng/mL)	6,20 \pm 1,67 ^a	4,49 \pm 0,53 ^b	6,13 \pm 0,53 ^a
Concentração máxima de progesterona (ng/mL)	6,78 \pm 1,72 ^b	6,37 \pm 0,64 ^b	8,15 \pm 0,64 ^a
Dia do ciclo estral em que ocorreu a máxima [P ₄]	13,40 \pm 0,58 ^a	11,38 \pm 0,59 ^b	11,31 \pm 0,59 ^b
Diâmetro do folículo dominante à luteólise (mm)	9,60 \pm 1,75	9,53 \pm 0,64	9,80 \pm 0,64
Duração da fase luteínica (dias)	18,20 \pm 0,57	17,13 \pm 0,45	17,29 \pm 0,45

¹ GnRH-PGF: aplicações intramusculares de GnRH + análogo da PGF_{2 α} sete dias depois + GnRH 48 h mais tarde. Norgestomet: uso intramuscular da solução com 5 mg de valerato de estradiol e 3 mg de norgestomet, simultaneamente à colocação de implante subcutâneo com 3 mg de norgestomet, onde permaneceu por nove dias. Norgestomet+eCG: o mesmo protocolo do tratamento norgestomet + administração intramuscular de 400 UI de eCG na retirada do implante.

² Médias com letras sobrescritas distintas (a > b > c) são diferentes estatisticamente (P < 0,05).

³ [P₄] = concentração plasmática de progesterona.

Aparentemente, nenhum dos protocolos adotados logrou reprogramar a função folicular, de modo a prevenir o crescimento de folículo dominante dentro do intervalo arbitrado como período crítico do reconhecimento da prenhez. De fato, entre D₁₃ e D₁₉ houve a influência de folículos dominantes (com 7 mm ou 8mm) em crescimento aproximadamente por pelo menos quatro dias (Tabela 1). Com efeito, a luteólise esteve relacionada com a presença de um folículo dominante (Tabela 2) com diâmetro aproximado de 10 mm, independentemente do tratamento aplicado. Além disso, os diâmetros dos folículos pré-ovulatórios da ovulação natural subsequente não foram influenciados (P > 0,05) pelo

tratamento prévio de sincronização. Portanto, nenhum dos protocolos ora testados foi capaz de modificar o padrão pré-programado de maturação folicular final e a luteólise do ciclo estral subsequente.

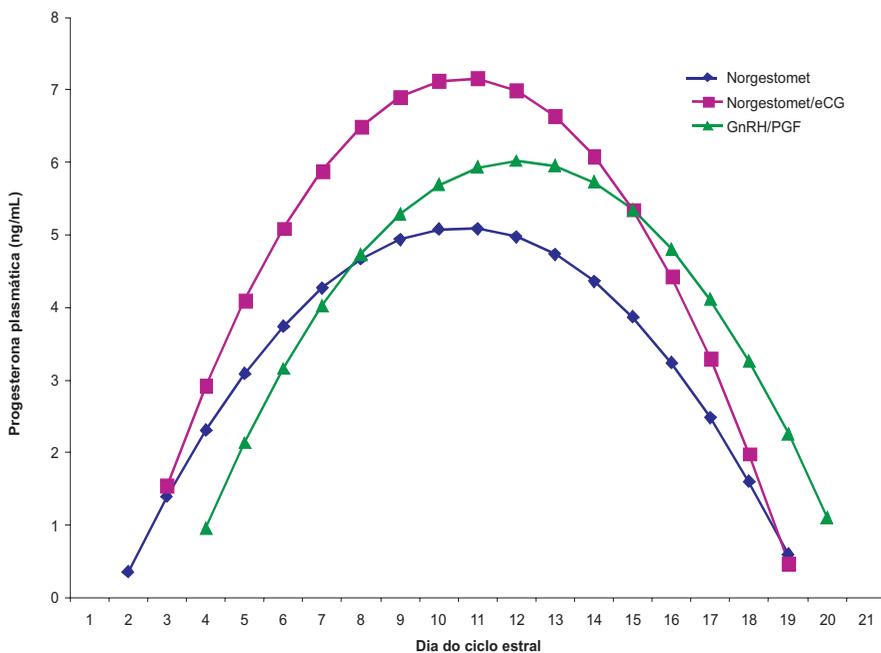


Figura 1. Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) durante o ciclo estral, resultante de tratamentos hormonais de vacas da raça Nelore, em São Carlos, SP.

O período interovulatório no grupo norgestomet não diferiu do norgestomet-eCG, os quais foram semelhantes aos $20,80 \pm 0,4$ dias e aos $20,80 \pm 0,4$ dias observados por Zeitoun *et al.* (1996) e por Rhodes *et al.* (1995), respectivamente. Antecipava-se o aumento no período interovulatório provocado pela administração de norgestomet e eCG, pois concentrações mais altas da progesterona podem diminuir a liberação de GnRH, por mecanismo de retroalimentação negativa sobre o hipotálamo, levando a menor liberação de FSH e LH. Deste modo, o folículo dominante seria menos estimulado e entraria em atresia precocemente, o que facilitaria a emergência de uma onda adicional de crescimento folicular e possibilitaria o prolongamento do ciclo estral (Rhodes *et al.*, 1995; Figueiredo *et al.*, 1997), embora Barros *et al.* (1998) não tivessem constatado diferenças no período interovulatório ou na duração do ciclo estral entre vacas nelores de duas e de três ondas. Aparentemente, no presente experimento, houve a ocorrência de uma terceira onda de crescimento folicular em algumas das vacas tratadas com GnRH-PGF, a qual pode ter sido responsável pelo aumento do período interovulatório (Tabela 1).

O volume máximo atingido pelo corpo lúteo após o tratamento com GnRH-PGF e com norgestomet-eCG foi maior do que o volume atingido pelo corpo lúteo após o tratamento com norgestomet. Entretanto, ao se acompanhar diariamente o desenvolvimento do volume do corpo lúteo ao longo do ciclo

estral, não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre os grupos, em consonância com os resultados encontrados por Marques *et al.* (2003), o que denota que as taxas de crescimento luteínico foram similares. Porém, as dimensões máximas (Tabela 2) observadas no presente estudo foram superiores àquelas constatadas por Figueiredo *et al.* (1997) e por Rhodes *et al.* (1995). Cumpre lembrar que o folículo pré-ovulatório determina, em parte, o tamanho e a massa celular do corpo lúteo subsequente, uma vez que não há divisão celular significativa das células da granulosa após a ovulação (Niswender *et al.*, 1994). No presente experimento, as médias do diâmetro do folículo pré-ovulatório sincronizado não diferiram entre os grupos. Portanto, no caso do GnRH-PGF especula-se que a possível ocorrência de uma terceira onda de crescimento folicular tenha prolongado a fase de crescimento do corpo lúteo, por mecanismo de retroalimentação positiva causada pela liberação de gonadotrofinas no diestro. De fato, o período interovulatório desse grupo também foi ampliado. Por sua vez, a obtenção de um volume máximo de corpo lúteo maior no grupo norgestomet-eCG caracteriza claramente a ação luteotrófica da eCG.

Com efeito, a eCG apresentou efeito luteotrófico, caracterizado não só pela obtenção de maior ($P < 0,05$) volume máximo de corpo lúteo, mas também por ter atingido concentração circulante de progesterona mais alta durante o ciclo estral subsequente (Figura 1). Como consequência, também foi observado que a concentração máxima de

progesterona no grupo norgestomet+eCG foi superior ($P < 0,05$) à dos outros grupos (Tabela 2). Além disso, cumpre destacar que a concentração de progesterona circulante esteve direta e positivamente relacionada ($r^2 = 0,55$) ao volume do corpo lúteo, independentemente do protocolo usado para a sincronização da ovulação.

Após sua aplicação, no momento da retirada do implante, a eCG ganha a circulação e liga-se aos receptores foliculares de FSH e LH, favorecendo, então, o crescimento e a maturação folicular, bem como a ovulação. Além disso, sua longa meia-vida, de até três dias (Murphy & Martinuk, 1991), permite sua ligação aos receptores de LH do corpo lúteo em formação (Stewart & Allen, 1981). Esta ação otimiza o desenvolvimento do corpo lúteo subsequente, promovendo o aumento do número de células luteais grandes, que são responsáveis por cerca de 80% da síntese de progesterona (Niswender *et al.*, 1994), conferindo-lhe maior volume e maior capacidade para produção de progesterona. Isto é reforçado pelos resultados da Tabela 2.

Com base no aclave (ou no grau de ascensão) das curvas apresentadas na Figura 1, pode-se especular que a formação do corpo lúteo ocorreu mais rapidamente nos grupos tratados com norgestomet, especialmente naquele que recebeu a eCG. Não obstante, a magnitude do pico de progesterona, ou seja, o valor máximo da sua concentração, também foi mais acentuada no grupo que recebeu norgestomet e eCG.

O efeito luteotrófico da eCG também ficou ilustrado pelo fato de que o corpo lúteo se manteve em crescimento por um período mais longo ($1,5 \pm 0,47$ dias), pois o corpo lúteo do grupo tratado com norgestomet e eCG atingiu seu máximo volume mais tardiamente (dia $9,18 \pm 0,47$) em relação ao tratado com norgestomet. Além disso, a concentração plasmática de progesterona associada a essa data foi significativamente maior no grupo que recebeu suplemento de eCG. Interessantemente, no grupo em que se administrou GnRH-PGF, as taxas de produção de progesterona e o desenvolvimento do corpo lúteo tiveram padrão mais lento. Como consequência, os valores máximos do volume do corpo lúteo e da concentração de progesterona foram atingidos tardiamente, apenas no D_{14} e no D_{13} , respectivamente (Tabela 2). Houve provável carência de estímulo gonadotrófico mais vigoroso para a formação inicial do tecido luteínico. De fato, a ascensão mais lenta na concentração de progesterona plasmática (Figura 1) foi observada com o GnRH-PGF. Além disso, concentrações tipicamente luteínicas foram alcançadas apenas entre D_4 e D_5 , ou seja, depois do ocorrido nos grupos sincronizados com progestágenos (D_3). Este último achado pode alterar o transporte embrionário da tuba ao útero (Bazer & First, 1983), bem como afetar o ambiente uterino (Mann *et al.*, 1996), de modo a imputar riscos potenciais à viabilidade do conceito e ao estabelecimento da comunicação materno-fetal (Binelli *et al.*, 2001). Em adição, segundo Wathes *et al.* (2003),

o benefício da progesterona já ocorre ao início da gestação, pois a concentração deste hormônio nos dias 4 e 5 após o acasalamento está correlacionada com as concentrações luminais de interferon- τ no dia 16.

O tratamento com 400 UI de eCG aumentou a concentração plasmática de progesterona aos oito, aos nove e aos doze dias após a retirada do implante de progestágeno e, à semelhança destes resultados, Marques *et al.* (2003) demonstraram o mesmo efeito, embora com concentrações de progesterona mais altas do que no presente estudo, tanto em vacas que receberam somente o norgestomet como naquelas que foram tratadas com eCG.

Nesse contexto, a maior concentração de progesterona na fase luteínica do ciclo estral, bem como a rapidez com que ela foi atingida, conforme constatado no tratamento com norgestomet e eCG neste estudo, é desejável, pois leva a ambiente uterino favorável (Mann *et al.*, 1996), o que dá condições para que o embrião se desenvolva adequadamente, produza interferon- τ e consiga sinalizar eficientemente a sua presença no útero. Este é o processo de “comunicação materno-embrionária”, o qual influencia decisivamente a manutenção da gestação ou a perda embrionária.

MacMillan *et al.* (2003) haviam relatado alta percentagem de ciclos estrais de curta duração (menores de 18 dias) devida à função luteínica subnormal após a indução da ovulação pelo protocolo OvSynch. No presente estudo, não houve ciclos curtos e as concentrações de progesterona

alcançadas no diestro pelas vacas do tratamento com GnRH-PGF foram típicas de fase luteínica, embora sua elevação tenha apresentado perfil mais lento, ilustrado por atividade mais moderada, observada na Figura 1. Contudo, os grupos não diferiram com relação à fase luteínica. Portanto, os efeitos dos protocolos de sincronização não foram capazes de modular a função ovariana de modo a retardar a luteólise.

Por sua vez, os efeitos da eCG sobre o corpo lúteo e a conseqüente produção de progesterona no diestro do ciclo subsequente à IA_{TF} dão melhores condições para o desenvolvimento embrionário e a manutenção da gestação (Baruselli *et al.*, 2004b), favorecendo o aumento na taxa de concepção. Apesar de o efeito da eCG sobre o crescimento folicular e sobre a ovulação (Baruselli *et al.*, 2004a) e a despeito de o incremento nas concentrações plasmáticas de progesterona (Mann *et al.*, 1999) serem mais notados e mais expressivos em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade, ou em animais que recém pariram (menos de 60 dias após o parto) ou em animais com condição corporal comprometida e em anestro (Baruselli *et al.*, 2004a), o presente estudo demonstrou que estes efeitos fisiológicos ocorrem de forma menos pronunciada em vacas da raça Nelore em atividade estral.

Os achados do presente estudo mostram coerência com os resultados de Baruselli *et al.* (2004a), que relataram taxas de prenhez superiores a 60% após IA_{TF} com o uso de protocolos de indução da ovulação baseados em progestágenos e que levantaram dúvidas sobre a aplicabilidade do protocolo

OvSynch para bovinos de corte em regiões tropicais. De fato, foram relatadas grandes variações na resposta ao protocolo OvSynch, representadas por baixa resposta em ovulação sincronizada (Bó et al., 1995), por função luteínica subnormal (Bó et al., 2002) e por anomalias na duração do ciclo estral (MacMillan *et al.*, 2003). Apesar de tais ocorrências não terem sido verificadas neste experimento, antecipa-se que a lenta formação do corpo lúteo (Figura 1) possa ter influência negativa sobre a eventual sobrevivência do concepto.

Neste contexto, infere-se que os protocolos baseados em progestágenos e na eCG podem prover proporção maior de vacas com a ovulação devidamente sincronizada e também otimizar a função luteínica. Neste caso, são protocolos de eleição para a obtenção de melhores resultados de prenhez após a IA_{TF}, em que o acasalamento dispensa a observação do estro.

Conclusões

O comportamento dos três protocolos avaliados em relação à indução da ovulação e à função folicular no ciclo subsequente é similar. Entretanto, a função luteínica é influenciada pelo protocolo de indução. A eCG administrada no dia da retirada do implante tem efeito luteotrófico e é indicada quando se antecipam situações de função luteínica subnormal. Entretanto, o protocolo à base de GnRH e PGF_{2 α} retarda a elevação da concentração circulante de progesterona pós-ovulação, o que é potencialmente prejudicial ao desenvolvimento embrionário e à manutenção da prenhez.

Referências bibliográficas

ALONSO, A.; MAPLETOFT, R. J.; BO, G. A.; TRIBULO, H. E.; CARCEDO, J.; TRIBULO, R.; MENAJOVSKY, J. R. Niveles de hormona luteinizante y de estrógeno em hembras *Bos indicus* tratadas com prostaglandina PGF_{2α}. **Revista Argentina de Producción Animal**, v. 15, p. 961-963, 1995.

BARROS, C. M.; MOREIRA, M. B. P.; FERNANDES, P. Pharmacological manipulation of estrous cycle to improve artificial insemination or embryo transfer programs. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 26, p.179-198, 1998.

BARUSELLI, P. S.; BÓ, G. A.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1., 2004, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2004a. p. 155-165.

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

BAZER, F. W.; FIRST, N. L. Pregnancy and parturition. **Journal of Animal Science**, v. 57, Suppl. 2, p. 425-460, 1983.

BINELLI, M.; THATCHER, W. W. Conceptus stimulated signal transduction pathway in the endometrium to maintain pregnancy. **Annual Review of Biomedical Sciences**, v. 1, p. 59-85, 1999.

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

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

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

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.; BARUSELLI, P. S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R. J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v. 57, p. 53-72, 2002.

BREUEL, K. F.; LEWIS, P. E.; INSKEEP, E. K.; BUTCHER, R. L. Endocrine profiles and follicular development in early-weaned postpartum beef cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 97, p. 205-212, 1993.

CAVALIERI, J.; RUBIO, I; KINDER, J. E.; ENTWISTLE, K. W.; FITZPATRICK, L. A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v. 47, p. 801-814, 1997.

DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Fertilization and embryonic mortality rates in beef heifers after artificial insemination. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, p. 463-468, 1980.

DUNNE, L. D.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M. Embryo and foetal loss in beef heifers between day 14 of gestation and full term. **Animal Reproduction Science**, v. 58, n. 1, p. 39-44, 2000.

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

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

KOMAR, C. M.; BERDNDTSON, A. K.; EVANS, A. C. O.; FORTUNE, J. E. Decline in circulating estradiol during the periovulatory period is correlated with decrease in estradiol and androgen, and in messenger rna for p450 aromatase and p450 17 α -hydroxylase, in bovine preovulatory follicles. **Biology of Reproduction**, v. 64, p. 1979-1803, 2001.

KUNZ, T. L.; GAMBARINI, M. L.; OLIVEIRA FILHO, B. D.; GALINDO, A. D. S. Mortalidade embrionária em bovinos: inter-relações embrião-patógenos. **Revista CFMV**, v. 8, n. 26, p. 27-36, 2002.

MACMILLAN, K. L.; HENDERSON, H. V. Analysis of the variation in the interval from an injection of prostaglandin f_{2 α} to oestrus as a method of studying patterns of follicle development during dioestrus in dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 6, p. 245-254, 1984.

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. 327-344, 2003.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Progesterone inhibition of development of the luteolytic signal in cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 104, p. 1-5, 1995.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-80, 2001.

MANN, G. E.; MANN, S. J.; LAMMING, G. E. The interrelationship between the maternal hormone environment and the embryo during the early stages of pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, Abstracts series 17, 1996. (Abstract, 55).

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; ROBINSON, R. S.; WHATES, D. C. The regulation of interferon- τ production and uterine receptors during early pregnancy. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 54 (suppl.), p. 317-328, 1999.

MARQUES, M. O., REIS, E. L., CAMPOS FILHO, E. P., BARUSELLI, P. S. Efeitos da administração de ecg e de benzoato de estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebuínas no período pós-parto. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 5. 2003, Córdoba, Argentina. **Proceedings...** Córdoba: Universidad de Buenos Aires, 2003. p. 392. (Abstract).

MCDougall, S.; WILLIAMSON, N. B.; MACMILLAN, K. L. GnRH induces ovulation of a dominant follicle in primiparous dairy cows undergoing anovulatory follicle turnover. **Animal Reproduction Science**, v. 39, p. 205-214, 1995.

MOMONT, H. W.; SEGUIN, B. E. Influence of the day of estrous cycle on response to $pgf_{2\alpha}$ products: implications for ia programs for dairy cattle. In: INTERNACIONAL CONGRESS ON ANIMAL REPRODUCTION, 10., 1984, Champaign, IL. **Proceedings...** Champaign: American Society of Animal Science, 1984. v. 3, p. 336. (Abstract).

MURPHY, B. D. MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotrophin. **Endocrine Reviews**, v. 12. p. 27-44, 1991.

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

PETERS, A. R. Embryo mortality in the cow. **Animal Breeding Abstracts**, v. 64, p. 587-598, 1996.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; VALLE, E. R.; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin $f_{2\alpha}$ or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O. WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PG F2 α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

RHODES, F. M.; BURKE, C. R.; CLARK, B. A.; DAY, M. L.; MACMILLAN, K. L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrus cows and cows which have resumed oestrus cycle. **Animal Reproduction Science**, v. 69, p. 139-50, 2002.

RHODES, F. M.; DE´ATH, G; ENTWISTLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 265-277, 1995.

ROCHA, J. L. **Sincronização hormonal da onda folicular e do estro em novilhas de corte mestiças monitoradas por radiotelemetria**. 2000. 125 p. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2000.

RUIZ-CORTES, Z. T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. **Animal Reproduction Science**, v. 54, p. 211-220, 1999.

SÁ FILHO, M. F.; REIS, E. L.; VIEL JR., J. O.; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H.; BARUSELLI, P. S. Dinâmica folicular de vacas nelore lactentes em anestro tratadas com progestágenos, ecg, e gnrh. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32 (supl.), p. 235, 2004.

SANTOS, J. E. P.; CERRI, R. L. A.; BALLOU, M. A.; HIGGINBOTHAM, G. E.; KIRK, J. H. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v. 80, p. 31-45, 2004b.

SAS INSTITUTE. **SAS/STAT: user's guide, version 8**. Cary, NC, USA: 2000.

STAGG, K.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. Follicular development in long-term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 49-61, 1995.

STEWART, F.; ALLEN, W. R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 62, p. 527-536, 1981.

VILLA-GODOY, A.; IRELAND, J. J.; WORTMAN, J. A.; AMES, N. K.; HUGHES, T. L.; FOGWELL, R. L. Effects of ovarian follicles on luteal regression in heifers. **Journal of Animal Science**, v. 60, n. 2, p. 519-527, 1985.

WATHES, D. C.; TAYLOR, V. J.; CHENG, Z.; MANN, G. E. Follicle growth, corpus luteum function and their effect on embryo development in postpartum dairy cows. **Reproduction**, v. 61 (suppl.), p. 219-37, 2003.

WEBB, R.; LAMMING, G. E.; HAYNES, N. B.; FOXCROFT, G. R. Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in postpartum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 59, p. 133-43, 1980.

WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G. L. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus*-influenced cattle managed on the Texas gulf coast. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1173-1178, 2002.

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

ZEITOUN, M. M.; RODRIGUEZ H. F.; RANDEL, R. D. Effect of season on ovarian follicular dynamics in brahman cows. **Theriogenology**, v. 45, p. 1577-1581, 1996.