

Henrique Moreira Souza

**USO DE GONADOTROPINA CORIÔNICA EQUINA ASSOCIADA
AO PROTOCOLO INDUTOR DE OVULAÇÃO EM
VACAS ZEBU EM ANESTRO PÓS-PARTO**

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Área de concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. Alan Maia Borges

Coorientadores: Dr. José Reinaldo Mendes Ruas
Dr. Bruno Campos de Carvalho

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2011**

S729u Souza, Henrique Moreira, 1985-
Uso de gonadotropina coriônica equina associada ao protocolo indutor de ovulação em vacas Zebu em anestro e pós-parto / Henrique Moreira Souza. – 2011.

85 p. : il.

Orientador: Alan Maia Borges

Co-orientadores: José Reinaldo Mendes Ruas, Bruno Campos de Carvalho

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

Inclui bibliografia

1. Vaca – Reprodução – Teses. 2. Gonadotropina coriônicas – Teses. 3. Progesterona – Teses. 4. Estrógenos – Teses. 5. Ovulação – Teses. 6. Reprodução animal – Teses.
I. Borges, Alan Maia. II. Ruas, José Reinaldo Mendes. III. Carvalho, Bruno Campos de.
IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V. Título.

CDD – 636.208 926

Dissertação defendida e aprovada em 20 de dezembro de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:


Prof. Alan Maia Borges
Presidente


Prof. Felipe Zandonadi Brandão


Prof. Helton Mattana Saturnino

*Dedico esse trabalho a toda minha família,
em especial aos meus pais, José Maurício de Souza e
Maria Auxiliadora Moreira Souza, que nunca mediram
esforços para a realização dos meus sonhos.*

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da UFMG, por possibilitar a realização do meu mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Álan Maia Borges, agradeço pela acolhida, compreensão e intensa participação na execução deste trabalho. E também, sou grato pelos conselhos e ensinamentos, importantes para minha formação profissional e pessoal.

À FAPEMIG, pelo apoio financeiro à pesquisa (APQ 02190/09), e à CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante parte do trabalho.

Aos coorientadores, Dr. José Reinaldo Mendes Ruas (EPAMIG) e Dr. Bruno Campos de Carvalho (EMBRAPA), pelo companheirismo, auxílio e pelas valiosas sugestões.

Aos Professores Dr. Felipe Zandonadi Brandão e Dr. Helton Mattana Saturnino pelas fundamentais críticas, sugestões, e participação na banca examinadora.

À toda família e funcionários da Fazenda Canoas (Luz - MG), em especial à Dra. Tânia Fiúza, pela excelente receptividade e por disponibilizar prontamente toda estrutura e os animais para realização do experimento.

Ao José Cláudio e todos da família Mascarenhas Barbosa, pela parceria e por disponibilizar os funcionários e animais das fazendas Tabuleiro Grande e Capoeira Grande (Araçá - MG) para realização do projeto.

Ao companheiro João Newton Pereira Lopes, seus familiares e funcionários da Fazenda Rancho Fundo (Capitão Enéas - MG), pela receptividade, colaboração e confiança ao disponibilizarem-se para a execução do experimento.

À Professora Dra. Adelina Reis do Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFMG e, em especial à Janine, pela fundamental ajuda nas análises para dosagem de progesterona.

Aos funcionários do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias e às funcionárias do Colegiado de Pós-Graduação pela prontidão em me ajudar.

A todos os professores que contribuíram para minha formação profissional, agradeço pelos valiosos ensinamentos, conselhos e prazerosos momentos proporcionados.

Aos amigos e colegas de curso Telma, Rafael, Carolina, Amanda, Alice, Laura, Custódio, Felipe, Gilson, Patrícia, Luigi, Juliana, Cristina e Ana Paula, pela amizade e convivência.

Aos meus pais, José Maurício e Maria Auxiliadora, aos meus irmãos Guilherme, Júlio e Marcelo, e aos demais familiares, pelo apoio, incentivo e compreensão, em todos os momentos.

A todas as pessoas que, de alguma forma, colaboraram para a conclusão deste trabalho.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- CETEA -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 147/2010**, relativo ao projeto intitulado "*Efeito da associação da gonadotrofina coriônica equina (ECG) ao protocolo com progesterona, sobre o retorno à atividade ovariana, crescimento folicular ovariano, taxas de ovulação e gestação de vacas da raça gir em anestro pós-parto*", que tem como responsável(is) **Álan Maia Borges**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **25/ 08/ 2010**.

Este certificado expira-se em **25/ 08/ 2015**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 147/2010**, related to the project entitled "*Association of equine chorionic gonadotrophin (ECG) to progesterone protocol on ovarian cyclicity, follicular growth, ovulation and pregnancy rates of postpartum anestrous gir cows*", under the supervisors of **Álan Maia Borges**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **August 25, 2010**.

This certificate expires in **August 25, 2015**.

Belo Horizonte, 27 de Agosto de 2010.

Prof^a. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite
Coordenadora do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@proq.ufmg.br

(Mod.Cert. v1.0)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE ANEXOS.....	13
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	15
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Crescimento folicular e retorno da atividade ovariana no pós-parto de bovinos.....	17
2.2 Efeito da presença da cria e da amamentação sobre o anestro pós-parto.....	18
2.3 Efeito da nutrição na reprodução pós-parto.....	21
2.4 Utilização de protocolos à base de progesterona e estrógeno para antecipar o retorno da atividade ovariana no pós-parto de bovinos.....	23
2.5 Relação entre o diâmetro folicular e fertilidade de bovinos em anestro após terapias hormonais.....	26
2.6 Associação da Gonadotropina Coriônica Equina (eCG) ao protocolo de progesterona e estradiol.....	29
2.7 Tamanho do corpo lúteo e concentração plasmática de progesterona em vacas zebuínas.....	31
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Localização e caracterização das propriedades e período experimental.....	32
3.1.1 Propriedade 1.....	32
3.1.2 Propriedade 2.....	33
3.1.3 Propriedade 3.....	33
3.2 Critérios de seleção dos animais nas propriedades.....	33
3.3 Metodologia utilizada em cada propriedade.....	33
3.3.1 Propriedade 1.....	34
3.3.2 Propriedade 2.....	35
3.3.3 Propriedade 3.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1 Propriedade 1.....	38
4.1.1 Avaliação do efeito do ECC sobre o diâmetro do folículo dominante ao início do tratamento hormonal e sobre as taxas de detecção de estro e gestação em vacas zebu em anestro pós-parto - propriedade 1.....	38
4.2 Propriedade 2.....	41
4.2.1 Avaliação do diâmetro do folículo dominante no momento da realização do protocolo hormonal, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG, sobre as taxas de ovulação, área e volume dos corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona - propriedade 2.....	42
4.2.2 Taxas de gestação aos 30 dias e de retorno à atividade ovariana luteal cíclica de vacas da raça Gir Leiteiro que não se tornaram gestantes após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 2.....	44

4.2.3	Área e volume dos corpos lúteos de vacas da raça Gir Leiteiro gestantes após tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 2.....	47
4.3	Propriedade 3.....	47
4.3.1	Escore de condição corporal (ECC) e diâmetro do folículo dominante ao início e ao final dos tratamentos hormonais, e no momento das inseminações de vacas Gir em anestro pós-parto - propriedade 3.....	47
4.3.2	Taxas de detecção de estro, de crescimento folicular e intervalo da retirada do implante de progesterona à manifestação do estro - propriedade 3.....	51
4.3.3	Taxas de ovulação, área e volume dos corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir - propriedade 3.....	54
4.3.4	Taxas de gestação aos 30 dias e de retorno à atividade ovariana luteal cíclica de vacas da raça Gir PO que não se tornaram gestantes, após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 3.....	57
4.3.5	Área e volume dos corpos lúteos de vacas da raça Gir PO gestantes após tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 3.....	59
5.	CONCLUSÕES.....	60
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
7.	ANEXOS.....	74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Taxas de gestação à inseminação artificial em tempo fixo no pós-parto de vacas tratadas com implante de progesterona e benzoato de estradiol (BE), associado ou não a 400 UI de gonadotropina coriônica equina (eCG) aplicada no momento da retirada do implante (dia 8).....	30
Tabela 2	Diâmetro folicular (mm), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5) e dias pós-parto de vacas zebuínas em anestro, no início do tratamento hormonal com progesterona e estrógeno, conforme o ano e o período experimental na propriedade 1 (média ± desvio padrão).....	34
Tabela 3	Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5), dias pós-parto e ordem de parto de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) na propriedade 2 - (média ± desvio padrão).....	35
Tabela 4	Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC; 1 a 5), peso vivo (kg) e dias pós-parto de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) na propriedade 3 - (média ± desvio padrão).....	37
Tabela 5	Diâmetro folicular (mm), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5) e dias pós-parto de vacas zebuínas em anestro, no início do tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, conforme o ano e o período experimental - propriedade 1 (média ± desvio padrão).....	38
Tabela 6	Vacas zebuínas detectadas em estro que se tornaram ou não gestantes após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, em dois períodos (fevereiro e abril) de duas estações de monta (2009 e 2010) - propriedade 1 (número e %).....	40
Tabela 7	Vacas zebuínas que não se tornaram gestantes, mas retornaram à atividade ovariana cíclica após tratamento hormonal para indução da ovulação, em duas épocas das estações de monta dos anos de 2009 e 2010, na propriedade 1 (número e %).....	41
Tabela 8	Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5), dias pós-parto e ordem de parto de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido ou não à aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 2 (média ± desvio padrão).....	42
Tabela 9	Taxas de ovulação (%), área (cm ²) e volume (cm ³) dos corpos lúteos (média ± desvio padrão) e concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) dez dias após a indução da ovulação de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não (T1 e T3) à aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 2.....	43
Tabela 10	Taxas de gestação aos 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir Leiteiro, em relação ao total de animais sincronizados e ovulados, durante a segunda etapa experimental da propriedade 2 (número e %).....	45

Tabela 11	Animais não gestantes que apresentavam corpo lúteo (CL) ou que retornaram ao anestro após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não à gonadotropina coriônica equina (eCG; T1 e T3), na segunda etapa experimental da propriedade 2.....	46
Tabela 12	Área (cm ²) e volume (cm ³) dos tecidos luteais após 10, 20 e 30 dias das inseminações artificiais de vacas da raça Gir Leiteiro que se tornaram gestantes, após serem submetidas ao tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 2 (média ± desvio padrão).....	47
Tabela 13	Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5), peso vivo (kg) e dias pós-parto de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG; T1 e T3) - propriedade 3 (média ± desvio padrão).....	48
Tabela 14	Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal (D0), na retirada do implante (D8) e no momento da inseminação artificial (IA) de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG; T1 e T3) - propriedade 3 (média ± desvio padrão).....	50
Tabela 15	Taxas de manifestação de estro (%), de crescimento folicular (mm/dia) e intervalo (horas) da retirada do implante de progesterona ao estro (INTERV) de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, submetidas ao tratamento hormonal a base de progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3.....	52
Tabela 16	Taxas de ovulação (%), área (cm ²) e volume (cm ³) dos corpos lúteos (média ± desvio padrão) e concentrações plasmáticas de progesterona (P4 - ng/mL) dez dias após a indução da ovulação de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não (T1 e T3) de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3.....	54
Tabela 17	Vacas da raça Gir PO que foram detectadas em estro, seguido ou não de ovulação, após o tratamento hormonal a base de progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3 (número e %).....	57
Tabela 18	Taxa de gestação aos 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir PO, em relação ao total de animais que foram sincronizados, aos detectados em estro e aos que ovularam - propriedade 3 (número e %).....	58
Tabela 19	Animais não gestantes que apresentavam corpo lúteo (CL) ou que retornaram ao anestro após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3.....	59
Tabela 20	Área (cm ²) e volume (cm ³) dos tecidos luteais 10, 20 e 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir PO que se tornaram gestantes após serem submetidas a tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 3 (média±desvio padrão).....	60

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Taxas de concepção segundo o período pós-parto, o escore de condição corporal e o tratamento com eCG em vacas da raça Nelore inseminadas em tempo fixo.....	30
----------	---	----

LISTA DE ANEXOS

Quadro 1	Distribuição da precipitação pluviométrica durante o ano agrícola 2008/2009 na propriedade 1 (Fazenda Rancho Fundo - Capitão Enéas, MG).....	74
Quadro 2	Distribuição da precipitação pluviométrica durante o ano agrícola 2009/2010 na propriedade 1 (Fazenda Rancho Fundo - Capitão Enéas, MG).....	75
	TABELAS ESTATÍSTICAS	76

RESUMO

Objetivou-se estudar, em três propriedades com diferentes manejos de nutrição e amamentação, a influência do diâmetro do folículo dominante (FD) no início do protocolo com progesterona e estrógeno associado ou não à aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG), sobre as taxas de crescimento folicular, ovulação e gestação de vacas zebuínas em anestro pós-parto. Na propriedade 1 (P1; $n=179$) as vacas apresentavam $FD \geq 10\text{mm}$ e não foi utilizado eCG no início e ao final de duas estações de monta; nas propriedades 2 (P2; $n=102$) e 3 (P3; $n=111$), as vacas foram distribuídas em três grupos: T1= $FD < 11\text{mm}$ sem eCG; T2= $FD < 11\text{mm}$ com eCG; e T3= $FD \geq 11\text{mm}$ sem eCG. Para mensurar o FD, foram realizadas ultrassonografias nos dias 0 e 8 dos tratamentos hormonais, no momento da inseminação artificial (IA) e, aos 10, 20 e 30 dias após a IA, para confirmar a presença e manutenção do corpo lúteo e a gestação. Na P1, as taxas de detecção de estro variaram de 63,3% a 73,3%, e as de gestação de 25,5% a 57,9%. As taxas médias de ovulação ($P > 0,05$) e gestação na P2 foram de 81,4% e 41,9% ($P > 0,05$). Na P3, as médias de crescimento folicular, ovulação e gestação foram de $0,7 \pm 0,5\text{mm/dia}$, 65,8% e 36,0%, sendo que animais do T1 foram inferiores ($P > 0,05$) aos demais, exceto na taxa de crescimento folicular, que foi igual ao T3. Na P3, onde a amamentação era contínua e a nutrição deficiente, a eCG proporcionou maior crescimento folicular e induziu a formação de corpos lúteos maiores ($P < 0,05$), além de aumentar as taxas de ovulação e gestação em vacas com $FD < 11\text{mm}$. A eCG pode ser dispensável em protocolos hormonais utilizados para vacas zebuínas com boa nutrição e restrição da amamentação.

Palavras-chave: *Bos indicus*; Gir; diâmetro folicular; progesterona

ABSTRACT

This experiment was done to study the effect of the diameter of dominant follicle (DF) at the beginning of progesterone protocol, associated or not to equine chorionic gonadotropin (eCG), on follicular growth, ovulation and pregnancy rates of postpartum anestrous Zebu cows. The study was done in three different farms: farm 1 (P1; $n=179$) - cows with $DF \geq 10\text{mm}$ and no eCG at beginning and end of breeding season; farm 2 (P2; $n=102$) and 3 (P3; $n=111$) used three treatments: T1= $DF < 11\text{mm}$ without eCG ; T2= $DF < 11\text{mm}$ with eCG ; and T3= $DF \geq 11\text{mm}$ without eCG . Ultrasound evaluations were performed on day 0 and day 8 of progesterone protocol, and at artificial insemination (AI) to measure the diameter of dominant follicle, at day 10 and 21 after AI to detect presence and maintenance of corpus luteum, and day 30 to pregnancy diagnosis. In farm P1, estrous detection and pregnancy rates ranged from 63.3% to 73.3% and 25.5% to 57.9%, respectively. Ovulation and pregnancy rates did not differ ($P > 0.05$), between treatments on farm P2, on average 81.4% and 41.9%, respectively. On farm P3, the follicular growth, ovulation and pregnancy rates were, on average, $0.7 \pm 0.5\text{mm/day}$, 65.8% and 36.0%, and results from treatment T1 were lower ($P < 0.05$) than T2 and T3, but follicular growth rate did not differ from T3. In farm 3 the nutritional management was deficient and used unrestricted suckling, the eCG increased follicular growth and bigger ($P < 0.05$) corpus luteum, increased ovulation and pregnancy rate in cows presenting $DF < 11\text{mm}$. In conclusion, eCG injection is dispensable in protocols used for cows under good nutrition and under restricted suckling.

Keywords: *Bos indicus*, Gyr, follicular diameter; progesterone

1. INTRODUÇÃO

Dentre as principais raças que mais cresceram nesta última década, o Gir Leiteiro se destaca pelo alto valor econômico e zootécnico alcançado por seus exemplares, seja para formação de novos rebanhos ou para produção de animais F1 oriundos do cruzamento Holandês x Gir. Segundo a ASBIA, 80% das doses de sêmen exportadas pelo Brasil em 2007 foram de Gir Leiteiro.

Atualmente, o grande interesse nos cruzamentos com zebu se deve às características como longevidade, alta produção, resistência a parasitos, adaptabilidade às condições climáticas e à sazonalidade da quantidade e qualidade de forrageiras nas regiões tropicais e subtropicais, o que confere maior estabilidade para o sistema de produção (Abeygunawardena e Dematawewa, 2004).

Contudo, apesar dos recentes trabalhos de melhoramento e seleção genética, o desempenho reprodutivo de fêmeas da raça Gir ainda está aquém do desejado, pois estes animais possuem idade tardia ao primeiro parto, com média de 46 meses (Wenceslau, 1998), apresentam período prolongado para o retorno da atividade ovariana pós-parto, o que leva ao maior período de serviço e ao longo intervalo de partos, com média de 496 dias (Balieiro et al., 1999), e, conseqüentemente, geram grandes perdas econômicas para o sistema de produção (Ferreira et al., 1992).

As vacas Gir Leiteiro também podem ser influenciadas negativamente pelo balanço energético negativo (BEN), por apresentarem considerável habilidade leiteira e materna. Na presença da cria ao pé, apresentam grande mobilização das reservas corporais no pós-parto, devido às modificações hormonais e metabólicas que priorizam o estado fisiológico da lactação

(Ruiz-Córtés e Oliveira-Angel, 1999; Borges, 2001). Desta forma, algumas estratégias de manejo devem ser adotadas para antecipar o retorno da atividade ovariana cíclica destes animais antes que mobilizem, significativamente, reservas corporais de gordura.

No pós-parto recente, o tratamento hormonal com progesterona ou progestágenos, tem obtido maior sucesso, traduzido pelas maiores taxas de ovulação e gestação, quando utilizado em animais que apresentam folículos dominantes de maiores diâmetros (Rhodes et al., 2003; Amaral et al., 2009; Silva, 2009). Desta forma, a presença de um folículo dominante maduro e responsivo aos sinais pré-ovulatórios no momento da indução do estro é condição fundamental para que ocorra a ovulação (Burke et al., 2001) e subsequente formação de corpo lúteo funcional (Vasconcelos et al., 2001).

Assim, como melhorar a eficiência dos protocolos hormonais em fêmeas que possuem folículos de menores diâmetros? Alguns estudos têm verificado melhoria na eficiência reprodutiva dos animais em anestro com folículos de menores diâmetros, quando associam a Gonadotropina Coriônica Equina (eCG) aos protocolos hormonais, visando estimular o crescimento folicular e a ovulação (Baruselli et al., 2003; 2004c; Penteado et al., 2004; Rodrigues et al., 2004; Ayres et al., 2007; Sá Filho et al., 2010a,b).

Desta forma, os objetivos específicos em cada propriedade utilizada neste estudo, foram:

- Propriedade 1: avaliar a capacidade de resposta (taxas de indução de estro, de gestação e de retorno à ciclicidade) de vacas zebu em anestro pós-parto apresentando folículo dominante com diâmetro igual ou superior a 10 mm no início do protocolo hormonal com progesterona e estradiol;
- Propriedades 2 e 3: avaliar, em diferentes condições de manejo nutricional e

amamentação, o efeito dos tratamentos hormonais com progesterona e estradiol, associado ou não à gonadotropina coriônica equina (eCG), sobre o retorno à atividade ovariana luteal cíclica; as taxas de ovulação e gestação; as características luteais e a concentração plasmática de progesterona em vacas da raça Gir em anestro pós-parto, segundo duas classes de diâmetro folicular (<11 mm ou ≥11 mm), verificadas no início da terapia hormonal.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Crescimento folicular e retorno da atividade ovariana no pós-parto

O retorno precoce da atividade ovariana no pós-parto é fundamental para melhorar a eficiência reprodutiva do rebanho, tal como a busca por nova concepção dentro de 85 dias pós-parto e intervalo de partos inferior a 13 meses (Savio et al., 1990; Ferreira, 1990; Diskin et al., 2001; Rhodes et al., 2003).

O período de anestro no pós-parto de zebuínos é caracterizado por sucessivas ondas de crescimento folicular, com desenvolvimento de folículos de diâmetros máximos de 8 a 9 mm, que, eventualmente, podem chegar a diâmetros pré-ovulatórios (12 a 13 mm). Todavia, estes folículos regridem continuamente antes da primeira ovulação, que pode ou não ser precedida por estro característico (Ruiz-Córtes e Oliveira-Ángel, 1999; Borges, 2001).

Durante as últimas semanas de gestação, o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano é inibido pelas altas concentrações de progesterona e estradiol placentário que, em conjunto, causam a redução (>95%) nas concentrações de Hormônio Luteinizante (LH) e Hormônio Folículo Estimulante (FSH), respectivamente (Nett, 1987). Adicionalmente, a baixa frequência e amplitude da secreção do Hormônio Liberador de Gonadotropinas (GnRH), devido à maior sensibilidade hipotalâmica

ao “feedback” negativo do estradiol ovariano e à menor responsividade da hipófise ao GnRH, contribuem significativamente para diminuir a concentração de LH e, conseqüentemente, para o atraso da primeira ovulação após o parto (Yavas e Walton, 2000a).

Contudo, o padrão de secreção de FSH é rapidamente restabelecido dentro de três a quatro dias após o parto (Roche et al., 1992), resultando no recrutamento e seleção do primeiro folículo dominante (Wiltbank et al., 2002) que, geralmente, falha em ovular e regride devido à baixa frequência dos pulsos de LH, com menos de um pulso a cada 4 horas (Lamming et al., 1981; Short et al., 1990).

Desde 1986, foi demonstrado que dentro de sete dias após o parto, é possível encontrar folículos maiores que 8 mm de diâmetro em vacas européias de corte, e que a população folicular de médio diâmetro (4 a 7,9 mm) aumenta significativamente até 42 dias pós-parto (Spicer et al., 1986). Com o transcorrer do puerpério e o restabelecimento dos estoques de LH hipofisário, a concentração plasmática e a frequência dos pulsos de LH aumentam linearmente (Nett, 1987; Jolly et al., 1995), o que pode ser percebido pelo aumento de até $1,8 \pm 0,7$ mm no diâmetro máximo dos folículos dominantes de vacas leiteiras Holandesas, a cada onda folicular, até a ocorrência da ovulação (McDougall et al., 1995).

Em vacas da raça Gir Leiteiro, a retomada do crescimento folicular foi verificada aos quatro dias após o parto, quando foram encontrados folículos de 4 a 9 mm de diâmetro, e folículo dominante apresentando taxa de crescimento de $1,4 \pm 0,6$ mm/dia até atingir seu diâmetro máximo. No mesmo estudo verificou-se, em média, $5,2 \pm 1,2$ ondas com folículos dominantes atingindo diâmetros médios de $8,9 \pm 0,6$ mm, com variação de 6,6 mm até diâmetros pré-ovulatórios para a raça (12 a 13 mm), sem

ocorrência de ovulação até 50 dias pós-parto (Borges, 2001). Isto indica que, assim como em vacas de corte européias que amamentam suas crias (Murphy et al., 1990; McDougall et al., 1995; Stagg et al., 1995), o prolongado anestro pós-parto de vacas zebuínas está relacionado com falhas na ovulação, e não com a ausência de ondas e de folículos dominantes. Logo, um dos principais hormônios envolvidos e determinante no período de anestro pós-parto é o LH, visto que logo após a divergência, o folículo dominante torna-se dependente de LH para completar sua maturação e ovulação (Ginther et al., 1996).

A ovulação ocorre quando há aumento da frequência de pulsos de LH (aproximadamente 1 pulso entre 1 e 2 horas; Walters et al., 1982), a ponto de estimular a produção máxima de andrógenos e, conseqüentemente, de estradiol, desencadeando a onda pré-ovulatória de LH, responsável pelo estágio final de maturação do folículo dominante (Roche et al., 1992). No entanto, sabe-se que a reposição dos estoques hipofisários de LH é gradativa e normalmente leva de 10 a 20 dias após o parto (Lamming et al., 1981), independente de amamentação, caso existam boas condições de manejo e bom escore de condição corporal. Esse período de recuperação é caracterizado por baixas concentrações circulantes, baixa frequência e menor amplitude de pulsos de LH (Williams, 2001).

Fatores como a nutrição no pré e pós-parto, a condição corporal ao parto, o nível de produção de leite e a presença da cria, dentre outros, são aditivamente responsáveis pela velocidade do restabelecimento dos estoques de LH, bem como pela amplitude e frequência da secreção desse hormônio e, portanto, pela capacidade dos animais ovularem no pós-parto (Lamming et al., 1981; Short et al., 1990; Yavas e Walton, 2000a; Williams, 2001). Após o restabelecimento dos estoques de LH, os

principais fatores que determinam o período da ovulação são a condição nutricional e a amamentação (Montiel e Ahuja, 2005).

A primeira ovulação pós-parto geralmente não é acompanhada por comportamento de manifestação do estro, sendo que até 64% das ovulações podem ser consideradas “silenciosas” (Lara, 1985) e, normalmente, são seguidas por fase luteal de curta duração (Murphy et al., 1990; Staples e Thatcher, 1990; McDougall et al., 1995; Diskin et al., 2001; Carvalho, 2009). Fato semelhante ocorre nos casos de desmame temporário (*shang*), sendo que nem sempre, o primeiro estro é seguido de ovulação (Fonseca, 1991). Caso ocorra, frequentemente o corpo lúteo é de baixa qualidade e resulta em ciclos estrais de curta duração (≤ 16 dias), uma vez que o retorno dos bezerros resultará em nova supressão dos reflexos bloqueadores da reprodução que estão ligados à presença da cria (Williams, 2001). No entanto, esse curto período ($9,6 \pm 1,0$ dias) de exposição à elevada concentração plasmática de progesterona ($4,4 \pm 0,8$ ng/mL; Webb et al. 1980), é importante para sensibilizar o sistema nervoso superior de modo a exteriorizar o comportamento de estro, antes da segunda ovulação (McDougall et al., 1992; Rhodes et al., 2003).

Nogueira (1994), ao estudar o puerpério em vacas de corte Zebu, relatou intervalo do parto ao primeiro estro de $94,5 \pm 33,5$ e $43,3 \pm 12,0$ dias, para primíparas e pluríparas, respectivamente. No mesmo estudo, observou-se que 38% das vacas tiveram a primeira ovulação pós-parto sem demonstrarem comportamento de estro e que 34,8% dos primeiros ciclos pós-parto foram de curta duração.

2.2 Efeito da presença da cria e da amamentação sobre o anestro pós-parto

A busca de conhecimentos sobre os mecanismos pelos quais a permanência da cria com a vaca, associada à amamentação,

interferem na reprodução pós-parto, foi motivo de muitos experimentos durante as últimas décadas. Em 1983, Acosta et al. propuseram um modelo, baseado no controle hormonal, tentando explicar a influência da amamentação e da presença da cria sobre o anestro pós-parto em vacas de corte. Por meio de dosagens sanguíneas de LH e FSH, os autores demonstraram que a sensibilidade do hipotálamo ao “feedback” negativo do estradiol era maior em vacas que permaneciam constantemente com suas crias quando comparado com vacas que foram desmamadas precocemente aos 21 dias pós-parto. Segundo estes autores, vacas que amamentam suas crias apresentam concentrações plasmáticas relativamente constantes de estrógeno e baixa liberação de LH, que por sua vez, não é suficiente para induzir a produção de estrógeno pelos folículos em quantidade necessária para desencadear o pico pré-ovulatório de LH, resultando em falha de ovulação e permanente anestro pós-parto.

Com o desenvolvimento de mais estudos, sugere-se que o efeito da presença da cria sobre a condição de anestro é proporcionado pela liberação de peptídeos opióides endógenos (POEs), tais como, encefalinas, endorfinas e dinorfinas, que agem no hipotálamo inibindo a secreção de GnRH e aumentando a sensibilidade ao “feedback” negativo do estradiol, resultando em menor secreção de LH (Williams, 1990; 2001). Esta suposição foi baseada nas pesquisas com o naloxone, antagonista dos POEs, que ao ser administrado em vacas de corte em anestro amamentando, resultou em maior concentração de LH, o que não foi verificado em vacas que tiveram seus bezerros temporariamente removidos (Whisnant et al., 1986). Por outro lado, agonistas dos POEs (morfina e meperidona), aplicados na fase folicular em novilhas, provocaram efeito inibitório na liberação de LH (Armstrong e Johnson, 1989).

Após ter sido estabelecido o vínculo mãe e cria por meio de estímulos olfativos, visuais e interações físicas na região inguinal (cabeçadas, manipulação oral do flanco ou amamentação), tanto a privação da olfação ou visão das vacas amamentando seus próprios bezerros, quanto a presença física da cria sem amamentação, mas percebida por meio dos mesmos sentidos, é capaz de desencadear os processos fisiológicos responsáveis pela inibição da secreção de LH e, conseqüentemente, na manutenção do estado de anestro no pós-parto (Griffith e Williams, 1996). No entanto, quando as vacas foram agrupadas com outra cria ou a amamentação foi forçada pelo bezerro de outra vaca, na presença tanto da visão quanto da olfação, o padrão de secreção de LH foi semelhante ao de vacas desmamadas ou mantidas com suas crias, porém, privadas dos sentidos de visão e olfação. Com isto, conclui-se que o efeito inibitório da presença da cria sobre a secreção e liberação de LH é efetivo somente quando a vaca apresenta pelo menos um destes sentidos que são essenciais para o reconhecimento do vínculo materno estabelecido com sua cria no momento do parto (Silveira et al., 1993; Griffith e Williams, 1996).

Inicialmente, acreditava-se que o estímulo somatosensorial da amamentação era a principal causa de anestro durante o período de lactação (Williams et al., 1987). Contudo, com o desenvolvimento das pesquisas nesta área, foi demonstrado que as vias sensoriais nos tetos e no úbere não desempenham nenhum papel na supressão da secreção de LH, pois nem a neurectomia do úbere, nem a mastectomia total, reduziram o intervalo anovulatório pós-parto quando as crias permaneceram com suas mães (Williams et al., 1993). Os estudos mostraram que o vínculo seletivo por parte da vaca com sua cria é uma condição indispensável para o estado anovulatório no pós-parto (Williams, 2001).

Apesar de aparentemente não haver nenhum efeito sobre o desenvolvimento de folículos dominantes (Murphy et al., 1990), a presença da cria ao pé e o vínculo vaca e cria influenciam negativamente no desempenho reprodutivo de vacas no pós-parto, sendo motivo de várias pesquisas envolvendo animais europeus (Williams, 1987; Griffith e Williams, 1996), zebuínos de corte (Fonseca et al., 1981), e mestiços leiteiros (Ferreira, 1990; Ruas, 1998).

Desta forma, diversos manejos de amamentação, associados ou não aos tratamentos hormonais, têm sido utilizados visando antecipar a primeira ovulação pós-parto e, assim, aumentar a eficiência reprodutiva nesta fase crítica dos sistemas de cria ou de produção de leite. A remoção temporária do bezerro por 48 a 72 horas (*shang*), o desmame precoce, e a restrição da amamentação para uma ou duas vezes por dia podem desencadear o aumento na frequência dos pulsos de LH e a ovulação em vacas com mais de 30 dias em lactação (Edwards, 1985; Yavas e Walton, 2000b). Isto se deve, provavelmente, à retirada dos efeitos inibitórios da presença da cria e à redução da exigência de lactação de vacas que amamentam (Borges, 2006). Porém, quando direcionada para vacas em anestro, o desmame temporário deve estar associado a tratamentos hormonais para sincronização e indução de ovulação, visto que, ao ser utilizado isoladamente, é inadequado para induzir a ovulação em mais de 30% das vacas (Williams, 2001).

Zebuínos puros (*Bos taurus indicus*) tendem a responder mais negativamente aos efeitos da presença da cria e da subnutrição, do que a maioria das fêmeas taurina ou *Bos taurus taurus* (Randel, 1990). Bolanõs et al. (1996) verificaram que o baixo escore corporal das vacas Zebu pode contrapor algum efeito favorável propiciado pela restrição da amamentação. Os efeitos da presença da cria com a vaca são mais acentuados em animais com baixos escores de condição corporal

(Fonseca et al., 1981; Brandão, 2004), devido ao efeito aditivo destes fatores na síntese de neuropeptídeos inibidores da secreção de GnRH e LH (Edwards, 1985), tais como alguns peptídeos opióides endógenos e o neuropeptídeo Y (Williams, 2001).

Sinclair et al. (2002) avaliaram os efeitos da condição corporal ao parto, da nutrição pós-parto e da restrição da amamentação, sobre o retorno da atividade ovariana cíclica em vacas taurinas de corte. Os animais que não responderam à restrição da amamentação, ou seja, não ovularam, apresentavam menor frequência de pulsos de LH antes da separação dos bezerros. Destes, a maioria apresentava baixa condição corporal ao parto e menores concentrações plasmáticas de insulina. Os autores acreditam que a baixa frequência dos pulsos de LH, associado à baixa concentração de insulina circulante, poderiam ter afetado o desenvolvimento folicular, o que reduziria a síntese de andrógenos e estrógeno, comprometendo a capacidade dos folículos adquirirem receptores de LH nas células da granulosa. Assim, o aumento da liberação de LH ao retirar os bezerros, possivelmente, não seria acompanhado pela presença de folículo dominante maduro e responsivo ao estímulo ovulatório. Desta forma, conclui-se que a resposta à restrição da amamentação depende da condição corporal e da concentração plasmática de insulina no início do pós-parto.

Um trabalho com vacas da raça Gir demonstrou que a dieta com maior nível energético pós-parto e a restrição da amamentação ou desmame precoce, foram eficientes em reduzir o período de anestro (Moore e Rocha, 1983). Neste estudo, independente do nível energético da dieta pós-parto, os animais perderam peso até 150 dias de lactação. Contudo, para as vacas que tiveram seus bezerros desmamados com três meses de idade, a perda de peso (16% vs 27%; $P < 0,05$) e o intervalo do parto à

concepção ($92,9 \pm 10,9$ vs $230,9 \pm 28,8$ dias; $P < 0,05$) foram menores, quando comparados com as vacas que amamentaram até o sexto mês de lactação.

Ao pesquisar a interação da condição corporal ao parto, da nutrição pós-parto e da frequência de amamentação sobre o intervalo do parto à primeira ovulação em vacas de corte européias, Diskin et al. (2001) concluíram que o controle da amamentação por meio da restrição do contato da mãe com a cria, foi o principal fator que comprometeu o retorno à ciclicidade ovariana, seguido pela condição corporal ao parto, que refletiu o nível nutricional dos animais no pré-parto.

2.3 Efeito da nutrição na reprodução pós-parto

O desempenho reprodutivo é o fator de maior impacto na produtividade e eficiência econômica da produção de bovinos, sendo o intervalo do parto à primeira ovulação um dos principais indicadores da eficiência reprodutiva e da condição nutricional do rebanho leiteiro (Beam e Butler, 1997; 1999) ou de corte (Sinclair et al., 2002).

Os efeitos da nutrição estão relacionados com uma complexa interação de variáveis, tais como, a quantidade e qualidade da dieta consumida, a reserva corporal de energia, e a partição dos nutrientes para outras funções fisiológicas, além da reprodução, conforme a seguinte ordem de prioridade: 1) metabolismo basal; 2) atividades; 3) crescimento; 4) reservas de energia; 5) lactação; 6) reservas adicionais de energia; 7) ciclos estrais e início de gestação; e 8) reservas excedentes de energia (Short et al., 1990).

Os possíveis locais e mecanismos pelos quais a nutrição afeta a reprodução incluem: hipotálamo (via síntese e liberação de GnRH); hipófise (por meio do controle da síntese e liberação de FSH, LH e Hormônio de Crescimento, GH); ovários (regulando a

síntese dos esteróides estradiol e progesterona); e fatores de crescimento, tais como o Fator de Crescimento Semelhante à Insulina tipo I, IGF-I (em conjunto com diversos hormônios, como insulina, leptina, e também com proteínas, como o NPY e proteínas ligadoras de IGF-I, afetam a taxa de crescimento, a maturação e a capacidade ovulatória dos folículos) (Diskin et al., 2003).

A importância das reservas corporais ao parto sobre o intervalo para o retorno da atividade ovariana luteal cíclica (RAOLC) de bovinos já foi demonstrada em diversos estudos. O escore de condição corporal (ECC), considerado uma ferramenta barata e de fácil obtenção, deve ser utilizado como índice de monitoramento e de tomadas de decisões, pois reflete a condição nutricional e o potencial reprodutivo do rebanho (Wiltbank et al., 1964; Dias, 1991; Hady et al., 1994; Ferreira et al., 2000).

Segundo Diskin et al. (2003), o início do anestro nutricional ocorre em diferentes períodos a partir da restrição alimentar, podendo ser influenciado pelo ECC, e sua duração é inversamente proporcional à taxa de perda de peso. Entretanto, o início do anestro parece ocorrer independente da categoria animal, quando este perde, em média, 22 a 24% do seu peso vivo inicial.

Resultado semelhante foi obtido por Ferreira (1990), que estudou a influência da nutrição e condição corporal na atividade reprodutiva de 20 vacas leiteiras mestiças, não lactantes, ciclando regularmente, peso vivo (PV) inicial de $535,5 \pm 48,4$ kg e ECC médio de $4,5 \pm 0,3$. Os animais foram submetidos à restrição alimentar para perda de 1 kg/dia, até entrarem em anestro. O autor verificou que os animais cessaram a atividade ovariana luteal cíclica (AOLC) com média de $183,5 \pm 30,3$ dias, quando chegaram aos $344,5 \pm 25,3$ kg e ECC $2,2 \pm 0,3$. Isto ocorreu após a perda média de $191,0 \pm 32,9$ kg, o equivalente a $35,7 \pm 3,8\%$ do peso

inicial. Após a realimentação de 12 destes animais (peso médio $315,0 \pm 29,0$ kg e ECC $1,9 \pm 0,2$) para ganhos de peso de $0,680$ kg de PV/dia, estes retornaram à AOLC em $114,0 \pm 37,9$ dias, quando atingiram, em média, $392,7 \pm 29,4$ kg (escore $3,0 \pm 0,2$), o que representa a recuperação de $77 \pm 11,2$ kg, correspondente a $24,7 \pm 4,5\%$ do peso médio dos animais no início da realimentação ou $37,7\%$ dos $206,2$ kg perdidos na restrição alimentar.

Em um estudo nacional realizado com 3408 vacas leiteiras mestiças em reprodução, na região da Zona da Mata - MG (Ferreira et al., 1992), foram verificados 1634 (47,9%) animais gestantes, dos quais 16,2% (264/1634) conceberam até 90 dias pós-parto, enquanto 83,8% apresentaram período de serviço médio de 240 dias. Em relação aos animais não gestantes, 60,7% (1077/1774) apresentavam-se em anestro, dos quais 73,1% tinham menos que 90 dias de lactação e 54,4% estavam em períodos superiores, sendo estas condições associadas ao baixo ECC.

A condição corporal de fêmeas bovinas está positivamente correlacionada com o desenvolvimento folicular no início do pós-parto (Staples e Thatcher, 1990; Jolly et al., 1995), com a frequência de liberação de LH, com as concentrações circulantes de insulina (Sinclair et al., 2002) e IGF-1 (Bishop et al., 1994) e, conseqüentemente, com o potencial ovulatório (Ferreira et al., 1992).

Ao realizar avaliações periódicas do peso e ECC (escala de 1 a 9) em 971 vacas zebu de corte, Dias (1991) verificou, por meio do acompanhamento das taxas de gestação, que a condição corporal ideal ao parto está entre 4,5 e 5,0, sendo que os melhores índices de fertilidade foram obtidos em animais com ECC superior a 5,0 aos 60 dias após o parto e no início da estação de monta. Wright et al. (1987) indicaram que um ponto de ECC em vacas de corte equivale a 53 kg de peso corporal, e que o anestro no pós-parto se

estende por 43 dias para cada ponto de ECC perdido após o parto.

Ao compararem vacas da raça Holandês que ovularam ou não antes do 40^o dia após o parto, ou que se mantiveram em anestro até a 9^a semana de lactação, Staples e Thatcher (1990) verificaram que as primeiras tiveram maior ingestão de matéria seca, maior produção de leite e menor perda de peso que as demais. Desta forma, vacas que perderam maior condição corporal nos dois a três primeiros meses da lactação tenderam a apresentar maior intervalo para o RAOLC (Butler et al., 1981; Staples e Thatcher, 1990; Ferreira, 1993), pois, nestas condições, até que haja a inversão do balanço energético negativo para o positivo, a frequência de secreção dos pulsos de LH permanece baixa, insuficiente para induzir o crescimento final e ovulação do folículo dominante (Canfield e Butler, 1990).

Estes achados são consistentes com o estudo de Sinclair et al. (2002). Para estes autores, o ECC ao parto exerce maior impacto sobre a duração do anestro pós-parto, do que a ingestão de matéria seca no pós-parto. Além da priorização dos nutrientes em favor da lactação, isto ocorre, possivelmente, porque existe relação do ECC com a frequência de pulsos de LH, com a capacidade de resposta dos folículos às gonadotropinas e, conseqüentemente, à qualidade folicular. Por outro lado, parece que a nutrição pós-parto é o fator mais determinante para o crescimento e diâmetro máximo do primeiro folículo dominante, do que a nutrição pré-parto (Diskin et al., 2003). Segundo Wiltbank et al. (1964), os efeitos da nutrição pós-parto são condicionados pelo nível nutricional do pré-parto.

A dificuldade de interpretar o efeito do nível nutricional sobre a reprodução pós-parto se deve ao confundimento com a produção de leite em vacas leiteiras (Diskin et al., 2003) e, em vacas de corte, com o efeito negativo do vínculo mãe e cria (Silveira et al., 1993).

Contudo, sabe-se que a diminuição da ingestão de alimentos, antes e após o parto, geralmente leva ao não atendimento das exigências nutricionais, resultando no balanço energético negativo (BEN) e, conseqüentemente, à mobilização de reservas corporais (Butler, 2000).

A restrição alimentar e o BEN estão associados à subfertilidade por diversos fatores, dentre eles, redução da frequência de liberação dos pulsos de LH (Butler e Smith, 1989), redução no desenvolvimento folicular (Lucy et al., 1991), redução do diâmetro máximo do folículo dominante (Murphy et al., 1991), atraso na primeira ovulação (Butler e Smith, 1989; Staples e Thatcher, 1990; Lucy et al., 1991), redução na qualidade do oócito, na função luteal e nas taxas de concepção (Britt, 1992).

Beam e Butler (1997) verificaram que o folículo dominante da primeira onda folicular que emergiu após o *nadir* do BEN, ou seja, o ponto de maior balanço energético negativo e que marca a inversão de um balanço energético negativo para o positivo, produziu maior concentração de estradiol ($4,08 \pm 0,49$ vs $1,96 \pm 0,53$ pg/mL; $P < 0,01$) e tiveram maiores taxas ovulatórias (75% vs 24%) do que os folículos dominantes que emergiram enquanto o balanço energético ainda estava tornando-se mais negativo. Também foi demonstrado que à medida que transcorre o BEN, quando se eleva a frequência de pulsos de LH, ocorre aumento na taxa de crescimento, no diâmetro máximo do folículo dominante e, conseqüentemente, na sua capacidade de maturação e ovulação, em vacas da raça Holandês (Staples e Thatcher, 1990; Beam e Butler, 1997).

2.4 Utilização de protocolos à base de progesterona e estrógeno para antecipar o retorno da atividade ovariana no pós-parto de bovinos

Diversas estratégias de manejo e terapias hormonais têm sido utilizadas com o

objetivo de antecipar e sincronizar o estro e a ovulação de bovinos no pós-parto recente.

Dentre os protocolos hormonais, a associação de implantes intravaginais de progesterona ou progestágenos e estrógeno tem sido amplamente utilizada, tanto para inseminação artificial em tempo fixo, IATF (Fike et al., 1997; Cutaia et al. 2003; Baruselli et al., 2004a; Ayres et al., 2006) quanto em programas com observação de estro seguida da inseminação ou monta natural (Ruas et al., 2005; Carvalho et al., 2007; Amaral, 2009; Silva, 2009).

No princípio, a administração de progestágenos para sincronizar o estro em bovinos era realizada por via oral (Zimbleman e Smith, 1966) ou aplicações intramusculares por vários dias (Foote e Hunter, 1964), e baseava-se no conhecimento de que a progesterona impede a ocorrência do estro e da ovulação (Christian e Casida, 1948). Nos dias 10 e 11 do ciclo estral, período caracterizado por elevada concentração circulante de progesterona (5 a 8 ng/mL) resultante da intensa produção pelo corpo lúteo, a concentração plasmática de LH é caracterizada por pulsos de alta amplitude (1,2 a 7,0 ng) e baixa frequência, com 6 a 8 pulsos em 24 horas (Rahe et al., 1980). Por outro lado, a manutenção de concentrações plasmáticas subluteais de progesterona, por longos períodos, aumenta a pulsatilidade do LH, favorece o crescimento e a persistência do folículo dominante, aumenta a produção de estradiol e suprime o desenvolvimento dos folículos subordinados (Savio et al., 1993; Kinder et al., 1996), mas está associada à baixa fertilidade do folículo ovulatório que persiste por mais que 10 dias (Mihm et al., 1994). Segundo Kinder et al. (1996), a menor fertilidade dos folículos dominantes persistentes pode ser devido ao estágio de desenvolvimento mais avançado do ovócito no momento da ovulação, que geralmente é associado à mortalidade embrionária precoce.

Atualmente, os implantes intravaginais ou auriculares são os mais utilizados por propiciarem liberação hormonal controlada e precisa, com menor tempo de tratamento e maior praticidade. No entanto, para que o tratamento de curta duração com progesterona seja efetivo em sincronizar o estro e a ovulação, foi necessária a incorporação do estrógeno nos protocolos. Conforme a dosagem e período do ciclo estral em que é realizada a aplicação, o estrógeno pode agir como agente luteolítico, no caso de animais ciclando (Wiltbank et al., 1961 citado por Odde, 1990). Também, pode suprimir o crescimento dos folículos e induzir a regressão do folículo dominante presente no início do tratamento de animais em anestro (Bó et al., 1995). O estrógeno pode ser usado em vacas acíclicas para induzir o estro, que pode ou não ser seguido de ovulação (Rhodes et al., 2002). No entanto, semelhante ao que ocorre normalmente no restabelecimento da atividade ovariana no pós-parto, as ovulações induzidas pelo estradiol geralmente são sucedidas por fase luteal de curta duração, entre 8 e 10 dias (McDougall et al., 1992), a qual pode ser evitada caso o tratamento indutor de ovulação seja precedido por um período de exposição à progesterona (Ramirez-Godinez et al., 1981).

Desta forma, além de atuar como agente luteolítico, a adoção do estradiol no momento da inserção do implante de progesterona remove os efeitos supressivos do folículo dominante sobre a secreção de gonadotropinas e permite a emergência de nova onda folicular em aproximadamente 4,3 dias (Bó et al., 1995), prevenindo os efeitos adversos do folículo dominante persistente sobre as taxas de gestação (Carvalho, 2004). Também, potencializa o efeito da progesterona na supressão da liberação de LH (Burke et al., 1996), favorecendo seu armazenamento na adenohipófise. Ao retirar o implante de progesterona, ocorre redução deste

hormônio na corrente sanguínea que, associada à aplicação do estradiol, permite o aumento da frequência dos pulsos de LH, possibilitando o crescimento, maturação e ovulação do folículo dominante presente ao final do tratamento (Savio et al., 1990; Rhodes et al., 2002).

Os parâmetros para avaliação da eficiência do método de sincronização de estro e ovulação em bovinos em anestro incluem, principalmente: a distribuição ou a taxa de sincronização de estros, o percentual de fêmeas demonstrando estro em relação ao total de fêmeas tratadas, o percentual de ovulação e de gestação total nas diferentes fases da estação de monta (Odde, 1990), e o percentual de animais que mesmo não se tornando gestantes, retornam à AOLC (Amaral, 2009).

Vários estudos de dinâmica folicular em vacas da raça Nelore têm sido desenvolvidos para indicar qual o melhor momento (simultâneo ou 24 horas após) e o tipo de estrógeno (benzoato ou cipionato) que deveria ser aplicado no final do tratamento com progesterona, para aumentar a sincronização da ovulação (Reis et al., 2004; Martins et al., 2005a; Ayres et al., 2006). De forma geral, as taxas de ovulação induzida por estes esteróides são semelhantes e variam de 75% a 100%, nos trabalhos citados.

Martins et al. (2005b) demonstraram que a associação de 50 mg de progesterona injetável com 2 mg de benzoato de estradiol, no início do tratamento hormonal, proporcionou maior sincronização da emergência e atraso no início da onda de crescimento folicular ($4,2 \pm 0,1$ dias), quando comparado com animais que receberam somente benzoato de estradiol no início do tratamento com implantes novos ($3,1 \pm 0,2$ dias) ou reutilizados ($2,8 \pm 0,2$ dias). O mesmo foi verificado por Colazo et al. (2003) e Sá Filho et al. (2005). No entanto, quando se realizou este protocolo

acrescido de 400 UI de gonadotropina coriônica equina (eCG), em receptoras de embriões, sem a aplicação de progesterona injetável, a eficiência não foi comprometida, resultando em percentuais semelhantes de novilhas aptas a serem inovuladas (apresentando CL \geq 18mm de diâmetro) e gestantes (Nasser et al., 2004).

Gimenes et al. (2008), ao submeterem novilhas *Bos taurus indicus* ciclando (13 Nelore, 11 Gir e 10 mestiças Nelore x Gir) ao protocolo hormonal à base de progestágeno (norgestomet) e benzoato de estradiol, obtiveram 85% (29/34) de ovulação no período de $67,2 \pm 0,8$ horas após a retirada do implante de progesterona, quando os folículos ovulatórios estavam, em média, com $12,2 \pm 0,4$ mm de diâmetro.

Ruas et al (2005) avaliaram o efeito do peso corporal no início do tratamento com progestágeno auricular, associado à injeção intramuscular de 3 mg de norgestomet e 5 mg de valerato de estradiol, sobre as características reprodutivas de vacas primíparas mestiças Holandês x Zebu no pós-parto recente (40 dias de lactação). Foi observado que independente do peso vivo, os animais tratados tiveram redução de 40 dias no período de serviço, sendo que apenas os animais de melhor condição corporal ao parto, e submetidos ao tratamento hormonal, foram capazes de atender o objetivo de um parto ao ano. Este resultado demonstra que a condição corporal é determinante na capacidade de resposta ao tratamento com progestágeno e estradiol. O tratamento hormonal corrigiu, parcialmente, o efeito negativo do baixo peso ao parto sobre a eficiência reprodutiva, o que também foi demonstrado em estudos com vacas da raça Gir em anestro pós-parto (Amaral, 2009; Silva, 2009).

Em estudo semelhante com primíparas da raça Nelore (n = 415) e mestiças F1 Nelore x Red Angus (n = 123), com 33 a 104 dias pós-parto (94,6% em anestro), Meneghetti e

Vasconcelos (2008) observaram que os animais com melhores escores de condição corporal (ECC) no momento do tratamento hormonal com implante intravaginal de progesterona e benzoato de estradiol apresentaram maiores taxas de concepção. Independente do período pós-parto, o incremento médio na taxa de concepção foi de seis pontos percentuais para cada 0,25 pontos de condição corporal ($P < 0,05$; escala de 1 a 5). Pela ultrassonografia, verificou-se que fêmeas de menor ECC também apresentaram folículos de menor diâmetro no momento da IATF ($P < 0,05$). As taxas de sincronização da ovulação e gestação foram, em média, de 91,8% (168/183) e 49,4% (266/538), respectivamente, sendo que 58,9% (99/168) das vacas sincronizadas conceberam após o tratamento hormonal.

No estudo de Vasconcelos et al. (2006), a associação de estratégias como a IATF no início da estação de monta, seguida de observação do retorno ao estro durante sete dias (de 18 a 24 dias após a IA), diagnóstico precoce de gestação aos 28 dias após a IA, e resincronização hormonal, foram eficientes para permitir que 69,3% das vacas se tornassem gestantes em 37 dias. Neste trabalho foram utilizadas 316 vacas da raça Nelore ou aneloras com média de 64 ± 17 dias pós-parto e escore de condição corporal $3,06 \pm 0,45$ (1 = muito magra e 5 = muito gorda). Deste total, 83,2% (263/316) dos animais estavam em anestro e foram submetidos ao seguinte tratamento hormonal: aplicação de 2 mg de benzoato de estradiol e dispositivo intravaginal de progesterona no dia zero, associado a 0,5 mg de cipionato de estradiol no momento da retirada do implante (dia nove), quando foi realizada desmama temporária até a realização das inseminações artificiais, 48 a 54 horas após a retirada do implante. Dos animais em anestro, 77,2% manifestaram estro nas primeiras 48 horas após a remoção do implante, sendo que, independente da condição corporal, 89,0% (234/263) dos animais foram efetivamente sincronizados.

Contudo, os animais detectados em estro tiveram maiores ($P < 0,01$) taxas de sincronização (93,4%; 228/244) quando comparados àqueles que não foram detectados em estro (72,2%; 52/72). A taxa de concepção foi de 47,5% (125/263) e não diferiu entre os animais detectados (52,1%; 127/244) ou não detectados em estro (45,8%; 33/72). Porém, houve influência da condição corporal ($P < 0,05$), de forma que os animais apresentando baixo, intermediário ou elevado escore de condição corporal tiveram 42,1% (53/166), 55,3% (52/94) e 59,1% (55/93) de concepção, respectivamente.

Um estudo recente foi desenvolvido em cinco propriedades de diferentes regiões de Minas Gerais, com o objetivo de avaliar a adoção de protocolos hormonais associado a estratégias de manejo (estação de monta e restrição da amamentação), visando incrementar a eficiência reprodutiva de vacas zebuínas leiteiras em anestro pós-parto (Silva, 2009). O protocolo constituiu-se de inserção do implante intravaginal de progesterona associado à aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol (dia 0), e aplicação de 1 mg de cipionato de estradiol no dia da retirada do dispositivo (dia 8). Os resultados diferiram entre as propriedades, sendo que o intervalo da retirada do implante ao estro variou de $13,7 \pm 4,4$ a $54,5 \pm 22,5$ horas, e as taxas de detecção de estro, ovulação e gestação aos 30 dias, variaram de 31,9 a 82,3%, 52,0 a 90,0% e 4,2 a 47,0%, respectivamente. Ao final do período experimental de 120 dias, 8 a 85,1% dos animais tratados ainda permaneciam em anestro. O autor atribuiu estas variações a alguns fatores, tais como o manejo de amamentação praticado em algumas fazendas, a introdução do touro no final da estação de monta e, principalmente, ao ECC e o diâmetro do folículo dominante no início do tratamento hormonal.

Estudos com vacas zebuínas leiteiras em anestro (Gir, Indubrasil, e seus mestiços),

mantidas a pasto com suas crias, mostraram que a utilização estratégica de terapias hormonais com progesterona e estrógeno no período pós-parto recente (30 a 65 dias), quando estas ainda não haviam mobilizado quantidade significativa de reservas corporais, foi eficaz em induzir o retorno à ciclicidade e à gestação. Porém, os autores verificaram que animais com folículo dominante de menores diâmetros responderam com menor eficiência ao protocolo de progesterona e estrógeno (Amaral, 2009; Silva, 2009).

Assim, a utilização estratégica deste tipo de protocolo, no final de estação de monta, tem demonstrado ser eficiente em induzir a ovulação e gestação em vacas em anestro, sendo que animais apresentando melhor condição corporal tendem a responder mais prontamente ao tratamento, quando comparados aos de baixo escore corporal (Dias et al., 2004).

2.5 Relação entre o diâmetro folicular e a fertilidade de bovinos em anestro após terapias hormonais

Apesar de 10% das vacas de corte em anestro, sincronizadas com progesterona e estradiol, apresentarem estro anovulatório (Fike et al., 1997), trabalhos recentes com vacas da raça Gir tem reportado que o percentual de estro anovulatório pode variar de 9% a 46,7% (Amaral, 2009; Silva, 2009). Estes autores atribuem o ECC e o diâmetro do folículo dominante, no início do protocolo hormonal, como possíveis fatores responsáveis por esta variação.

Burke et al. (2001) estudaram o efeito da maturidade do folículo dominante sobre as taxas de estro e a ovulação em novilhas de corte pré-púberes, púberes, vacas amamentando e em anestro ($29,3 \pm 1,7$ dias pós-parto), sincronizadas com progesterona e estradiol aplicado 24 horas após a remoção do implante intravaginal. Os pesquisadores demonstraram que o objetivo de induzir o

estro é prontamente atingido com o estradiol, independente da condição reprodutiva do animal e da maturidade do folículo dominante. Contudo, ao contrário do encontrado nas novilhas, a maturidade do folículo dominante no momento da retirada do implante de progesterona em vacas em anestro e amamentando foi determinante para ovulação e a função luteal subsequente. Isto porque naqueles animais em que o período de exposição à progesterona foi menor (um *vs* quatro dias), o folículo dominante apresentou menor diâmetro no momento da retirada do implante ($6,4 \pm 0,2$ mm *vs* $11,0 \pm 0,6$ mm) e à ovulação ($9,0 \pm 0,6$ mm *vs* $13,8 \pm 0,4$ mm), menor taxa de ovulação [44,4% (4/9) *vs* 100% (9/9)], corpo lúteo formado de menor tamanho ($P > 0,01$), produzindo menos progesterona ($P < 0,05$), e com menor período de atividade funcional ($P = 0,07$) do que aqueles oriundos de folículos de maior maturidade.

Sartori et al. (1998; 2001) desafiaram vacas leiteiras em lactação com diferentes doses de LH, visando determinar a associação entre capacidade ovulatória e diâmetro folicular no dia da divergência. Foi demonstrado que os folículos adquirem a capacidade ovulatória com aproximadamente 10 mm de diâmetro, correspondendo ao primeiro dia após a divergência folicular (8,5 mm) que ocorreu, em média, 2,8 dias após a emergência da onda folicular (Ginther et al., 1996). Contudo, estes folículos necessitaram de maior dose de LH (40 mg *vs* 4 mg) para atingir a taxa de 80% de ovulação, quando comparado com 100% daqueles animais que apresentavam folículos de diâmetro ≥ 12 mm no dia da aplicação do LH. Os autores especularam que o aumento da expressão de receptores de LH nas células da granulosa esteja relacionado com a aquisição da capacidade ovulatória e de crescimento do folículo dominante.

Em zebuínos, os estudos sugerem que o diâmetro do folículo dominante no momento da divergência folicular está entre 5,4 mm

(Castilho et al., 2007) e 5,9 mm (Sartorelli et al., 2005), quando se passaram 2,7 e 2,6 dias da ovulação, respectivamente. Apesar do intervalo da ovulação à divergência folicular ser semelhante, esta fase parece ocorrer num período mais avançado depois da emergência da primeira onda folicular em fêmeas taurinas, quando comparadas às novilhas da raça Nelore. Nesta raça, a emergência da onda folicular geralmente não ocorre antes de 24 horas da ovulação, com média de $1,5 \pm 0,15$ dias (Figueiredo et al., 1997) e o diâmetro do futuro folículo dominante no início da divergência foi aproximadamente 2 mm menor (Sartorelli et al., 2005).

Gimenes et al. (2008) demonstraram que em novilhas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*), a divergência ocorreu aos 2,5 dias após a ovulação, quando o folículo dominante estava com 6,2 mm de diâmetro. A capacidade ovulatória foi adquirida quando o folículo dominante alcançou diâmetro médio de 7,6 mm (7,0 a 8,4 mm). Neste mesmo estudo, os autores induziram a ovulação com 25 mg de LH em novilhas apresentando diferentes categorias de diâmetro folicular. As taxas de ovulação foram de 33%, 80% e 90% para os animais com folículos dominantes de 7,0 a 8,4 mm, 8,5 a 10,0 mm e maiores que 10 mm de diâmetro, respectivamente.

A razão para estas diferenças no diâmetro e no momento em que ocorrem a divergência e a capacidade ovulatória foliculares entre taurinos e zebuínos é motivo de especulação. Acredita-se que as diferenças podem ser devidas a características inerentes aos zebuínos, tais como, diferenças no metabolismo animal (Gimenes et al., 2008) e menor taxa de crescimento do folículo dominante: 1,1 a 1,4 mm/dia em vacas Gir (Borges, 2001) *vs* 1,5 a 2,1 mm/dia em vacas da raça Holandês (Ginther et al., 2001). A diferença na taxa de crescimento folicular pode estar relacionada com a menor concentração plasmática de FSH (0,45

ng/mL em vacas Brahman vs 0,6 ng/mL em vacas Angus) e à maior concentração circulante de IGF-I (22,9 ng/mL vacas Brahman vs 10,0 ng/mL em vacas Angus), em zebuínos, quando comparados aos taurinos (Alvarez et al, 2000).

A influência do diâmetro do folículo dominante ao início do protocolo com progesterona e estrógeno sobre as taxas de ovulação e de gestação em vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto (66,1 ± 24,5 dias pós-parto) foi estudada por Amaral (2009). O autor dividiu os animais em quatro grupos experimentais: T1 = vacas com folículo dominante (FD) de diâmetro inferior a 10 mm e não tratadas com hormônios; T2 = vacas com FD de diâmetro inferior a 10 mm e submetidas ao protocolo hormonal (inserção de implante intravaginal de 1,9 g de progesterona, associado à aplicação intramuscular de 1,0 mg de benzoato de estradiol no dia 0 e aplicação de 1,0 mg de cipionato de estradiol no momento da retirada do implante, dia 8); T3 = vacas com FD de diâmetro superior a 10 mm e não tratadas com hormônios; T4 = vacas com FD de diâmetro superior a 10 mm e submetidas ao mesmo protocolo hormonal do tratamento T2. A taxa de estros foi de 4% nos grupos T1 e T3, contra 100% em T2 e T4. As taxas de ovulação após o tratamento hormonal ou no período correspondente à confirmação da ovulação foram de 16%, 60%, 28% e 88% ($P < 0,05$), para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente. As taxas de anestro e gestação aos 30 dias das inseminações, para os tratamentos T1, T2, T3 e T4, foram de 76%, 60%, 52% e 24% ($P < 0,05$), e de 0%, 20%, 16% e 52% ($P < 0,05$), respectivamente. Independente se tratados ou não, os animais com FD de diâmetro superior a 10 mm obtiveram melhores resultados reprodutivos, demonstrando maior capacidade ovulatória, haja visto que o folículo ovulatório de vacas Gir cíclicas varia de 10 a 13 mm (Borges, 2001).

Borges et al. (2008) avaliaram a eficiência do protocolo hormonal ao induzir o estro e a ovulação de 54 vacas F1 Holandês x Zebu em anestro pós-parto (41,37 ± 12,11 dias; ECC de 3,76 ± 0,19; 18,0 ± 3,5 kg de leite/dia), apresentando folículos dominantes de diâmetro superior a 9 mm. O protocolo hormonal foi realizado nas estações seca (julho, n = 32) e chuvosa (janeiro, n = 22), e consistiu na inserção do dispositivo intravaginal de progesterona e aplicação de 1 mg de benzoato de estradiol no dia 0. No dia 8, o implante foi removido e as vacas receberam 1 mg de cipionato de estradiol. As taxas de ovulação (93,7% vs 81,8%), os diâmetros máximos dos folículos no início do protocolo (12,6 ± 2,1 vs 13,3 ± 2,3 mm) e as áreas dos corpos lúteos nos dias seis ou sete após a ovulação (3,2 ± 1,2 vs 3,4 ± 1,1 cm²) não diferiram ($P > 0,05$) entre a seca e as águas, respectivamente. Contudo, os animais que ovularam após o tratamento hormonal apresentavam folículo dominante de maior diâmetro (13,1 mm; $P < 0,05$) no início do tratamento, em relação aos que não ovularam (10,6 ± 2,2 mm). Esta relação também foi observada por Carvalho et al. (2007).

Ao utilizar todas estas ferramentas a favor da reprodução, Silva et al. (2009) obtiveram 95% de gestação em vacas da raça Indubrasil que se encontravam em anestro (74,1 ± 36,1 dias pós-parto) e escore de condição corporal de 3,4 ± 0,6 (escala 1 a 5) no início da estação de monta. Os autores atribuíram este elevado índice de gestação ao diâmetro folicular (11,3 ± 2,6 mm) no início do protocolo hormonal, associado à melhor condição corporal e à maior capacidade de responder ao tratamento hormonal (Amaral et al., 2008).

A presença de folículo dominante de maior diâmetro sugere aquisição de receptores de LH nas células da granulosa, o que é decisivo para produção de andrógenos e estradiol, capaz de estimular a onda pré-ovulatória de LH e a ovulação (McDougall

et al., 1995). Isto reforça a hipótese de que o diâmetro folicular é um dos fatores importantes para o sucesso da terapia hormonal de vacas em anestro (Burke et al., 2001; Rhodes et al., 2003).

2.6 Associação da Gonadotropina Coriônica Equina (eCG) ao protocolo de progesterona e estradiol

O primeiro relato da presença de uma substância de ação gonadotrópica no soro de éguas gestantes é de Cole e Hart (1930), no qual demonstraram que a injeção intraperitoneal do soro proveniente de éguas, em determinados períodos de gestação, foi eficiente em estimular o crescimento ovariano de ratas imaturas. Posteriormente, Allen e Moor (1972) observaram que este hormônio é produzido na parte fetal da placenta, por células trofoblásticas especializadas que são encontradas em estreita associação com o endométrio.

A eCG é um hormônio glicoprotéico de alto peso molecular produzido nos cálices endometriais da égua entre 38 e 130 dias de gestação, possui grande quantidade de ácido siálico, o que lhe confere longa meia vida plasmática (Murphy e Martinuk, 1991), se liga aos receptores de FSH e LH dos folículos e aos receptores de LH do corpo lúteo (Stewart e Allen, 1981). Em equinos, a eCG gera luteinização de folículos ou ovulação durante a gestação, sendo responsável pela formação de corpos lúteos acessórios e elevação da concentração de progesterona circulante (Murphy e Martinuk, 1991).

Quanto ao seu uso em bovinos, a eCG já foi utilizada em protocolos de superovulação (Baruselli et al., 2008), tem sido empregada em terapias hormonais para sincronização e indução da ovulação em receptoras de embriões (Baruselli et al., 2000) e, principalmente, em vacas em anestro pós-parto e com baixa condição corporal, pois estimula o crescimento folicular e

incrementa a taxa de ovulação (Baruselli et al., 2004b; Sá Filho et al., 2010a).

O efeito positivo sobre a taxa de gestação, quando a eCG é associada a protocolos de IATF, é mais efetivo quando observa-se alta proporção de vacas em anestro no início do tratamento hormonal (Baruselli et al., 2003; Cutaia et al., 2003; Rodrigues et al., 2004; Bryan et al., 2008), com baixo escore de condição corporal (Baruselli et al., 2004a; Souza et al., 2009), ou em ambos os casos (Ayres et al., 2007; Sá Filho et al., 2010a).

Numa compilação de dados, Baruselli et al. (2004b) demonstraram que existe interação da condição corporal com o uso de eCG, sobre a taxa de gestação de bovinos. A melhoria na fertilidade pela eCG foi observada somente quando utilizada em vacas com baixo ECC ($\leq 2,5$), sendo observadas taxas de gestação de 40,7% (88/216) para as que não receberam eCG e de 55,4% (144/260), para as que receberam esse hormônio ($P < 0,05$). Não houve diferença quando aplicada em vacas com bom ECC ($\geq 3,0$), sendo observadas taxas de 56,6% (414/732) e 54,2% (421/776) para os animais que receberam ou não aplicação de eCG, respectivamente ($P > 0,05$).

Para esclarecer a variação nos resultados da literatura, dois estudos semelhantes (Baruselli et al., 2003; Cutaia et al., 2003) foram desenvolvidos para avaliar o efeito da eCG no início do protocolo de sincronização sobre a atividade ovariana de vacas de corte amamentando (60 a 90 dias pós-parto). Os tratamentos consistiram na inserção do implante intravaginal de progesterona e aplicação de 2,0 mg de benzoato de estradiol no dia 0. No dia 8, todas as vacas receberam 0,15 mg de D(+)-cloprostenol e o implante foi removido. As vacas foram divididas em dois grupos, com ou sem aplicação de 400 UI de eCG no dia 8. Todos os animais receberam 1,0 mg de benzoato de estradiol no dia 9 e foram inseminados de 30 a 34 horas após a aplicação deste hormônio. A

taxa de gestação total foi superior ($P < 0,05$) no grupo com eCG quando comparado ao grupo que recebeu apenas progesterona e estradiol (47,6% vs 34,8%), sendo que o efeito foi mais evidente quando o diâmetro do folículo dominante no início do tratamento era menor (Tabela 1).

Um estudo retrospectivo foi desenvolvido para avaliar o efeito da associação de eCG ao protocolo de sincronização da ovulação

de vacas Nelore ($n = 887$) submetidas a IATF em diferentes períodos pós-parto (30 a 99 dias), com baixo ($< 3,0$, escala de 1 a 5) ou alto ($\geq 3,0$) escore de condição corporal (Ayres et al., 2007). Os resultados indicaram que quando o protocolo de sincronização para IATF foi realizado antes de 60 dias pós-parto, a utilização de eCG melhorou as taxas de concepção, independente da condição corporal (Figura 1).

Tabela 1. Taxas de gestação à inseminação artificial em tempo fixo de vacas pós-parto tratadas com implante de progesterona e benzoato de estradiol (BE), associado ou não a 400 UI de gonadotropina coriônica equina (eCG) aplicada no momento da retirada do implante (dia 8)

Raça	Condição ovariana*	Grupo BE % (n)	Grupo eCG + BE % (n)
Braford (Cutaia et al., 2003)	Corpo lúteo	33,3% (5/15)	34,6% (9/26)
	Folículos médios	29,1% (7/24)	33,3% (6/18)
	Folículos pequenos	17,6% (3/17) ^b	38,8% (7/18) ^a
	Total	26,7% (15/56)	35,5% (22/62)
Nelore (Baruselli et al., 2003)	Corpo lúteo	55,5% (15/27)	64,0% (16/25)
	Folículos ≥ 8 mm	34,4% (22/64) ^d	50,0% (29/58) ^c
	Folículos < 8 mm	29,4% (5/17) ^f	56,5% (13/23) ^e
	Total	38,9% (42/108) ^b	54,7% (58/106) ^a
Total		34,8% (57/164) ^b	(47,6%) (80/168) ^a

Letras distintas na mesma linha diferem entre si (a, b, $P < 0,05$; c, d, $P = 0,06$; e, f, $P = 0,08$), pelo teste do Qui-Quadrado. *A condição ovariana foi avaliada por palpação transretal nas vacas Braford e por ultrassonografia nas vacas Nelore (Adaptado de Bó et al., 2003).

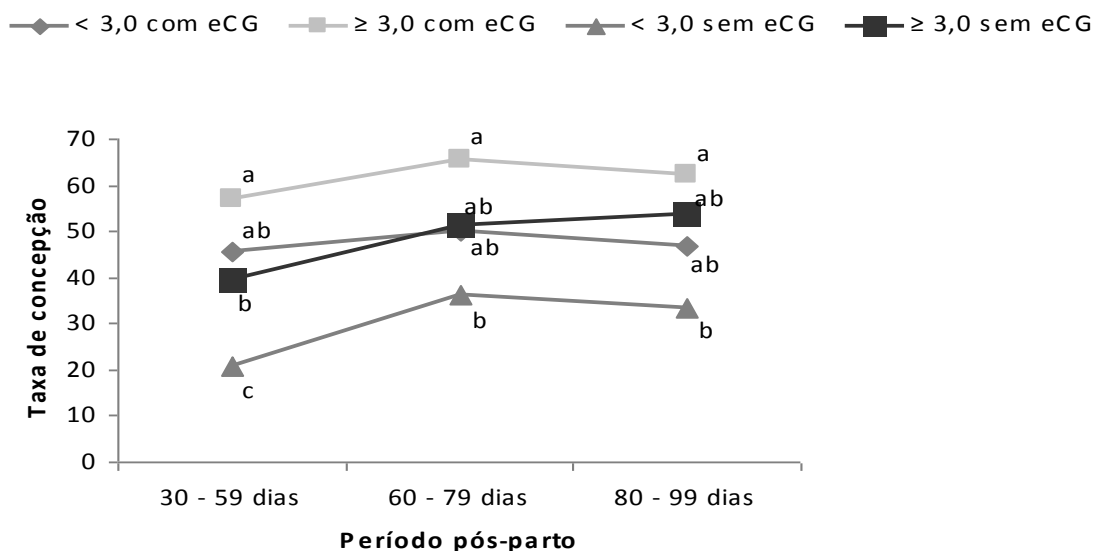


Figura 1. Taxas de concepção segundo o período pós-parto, o escore de condição corporal e o tratamento com eCG em vacas da raça Nelore inseminadas em tempo fixo (Adaptado de Ayres et al., 2007).

O efeito positivo da eCG para os animais de melhor condição corporal ($\geq 3,0$) não foi verificado com o avançar do pós-parto, ou seja, o uso da eCG se tornou benéfico apenas para os animais com $ECC < 3,0$ (Ayres et al., 2007).

Sá Filho et al. (2010a) realizaram estudo com 50 vacas Nelore amamentando e em anestro pós-parto ($134,5 \pm 2,3$ dias), e com escore de condição corporal médio de $2,43 \pm 0,04$ (escala de 1 a 5, segundo Ayres et al., 2009). O objetivo foi investigar o efeito da aplicação de 400UI de eCG no momento da retirada do implante de progesterona sobre a dinâmica folicular e a fertilidade, num programa de IATF. Foi verificado que o tratamento com eCG afetou positivamente o diâmetro do folículo dominante no dia da IATF ($11,2 \pm 0,9$ vs $9,4 \pm 1,1$ mm; $P=0,03$), aumentou a taxa de crescimento folicular ($1,50 \pm 0,1$ vs $0,56 \pm 0,2$ mm/dia; $P<0,001$), a taxa de ovulação ($76,9\%$ vs $50,0\%$; $P=0,03$), e tendeu à maior taxa de gestação ($46,2\%$ vs $25,0\%$; $P=0,07$). Os autores concluíram que a melhora da fertilidade em vacas tratadas com eCG é baseado em três efeitos: aumento do diâmetro do folículo ovulatório, melhora na taxa de ovulação e maior concentração plasmática de progesterona na fase luteal subsequente, o que está relacionado com o tamanho do folículo ovulatório (Baruselli et al., 2001).

Estes resultados reforçam os estudos em que o uso de eCG incrementou aproximadamente 20 pontos percentuais na taxa ovulatória de novilhas tratadas com protocolos à base de progesterona para sincronização da ovulação (Baruselli et al., 2004c; Sá Filho et al., 2005). No entanto, o intervalo da retirada do implante à ovulação (sem eCG, $70,5 \pm 2,7$ vs com eCG, $72,0 \pm 3,1$ horas) e a sincronização (dispersão) das ovulações não foram influenciados pela eCG (Sá Filho et al., 2010a). Estes resultados diferem do encontrado para vacas *Bos taurus indicus* não lactantes (Cavaliere et al., 1997), no qual foi verificada melhora na

taxa de sincronização com o uso de eCG ($60,8$ a $82,5$ horas) quando comparada ao grupo que não recebeu esse hormônio ($65,8$ a $114,0$ horas; $P<0,001$).

A aplicação de 400 UI de eCG no momento da emergência da onda folicular (dia cinco) em receptoras de embriões sincronizadas com implante intravaginal de progesterona mantido por oito dias, aumentou o número de duplas ovulações, induziu a formação de corpos lúteos únicos de maiores diâmetros ($17,7$ mm vs $18,5$ mm, $P<0,02$; Tríbulo et al., 2002), elevou a concentração plasmática de progesterona ($1,63$ ng/mL x $2,69$ ng/mL, $P<0,05$; Nasser et al., 2004), e aumentou a taxa de gestação [$33,9\%$ ($53/156$) vs $48,7\%$ ($76/156$), $P<0,02$, Tríbulo et al., 2002; Reis, 2004]. Os autores especularam que a eCG administrada no dia cinco do protocolo de sincronização, pode estimular o desenvolvimento de folículos codominantes, o que não ocorre quando é aplicada no dia oito, pois, neste momento, já foi estabelecida a divergência e dominância do folículo ovulatório.

2.7 Tamanho do corpo lúteo e concentração plasmática de progesterona em vacas zebuínas

Borges (2001) submeteu vacas da raça Gir em anestro pós-parto (33 a 47 dias) a tratamento com progestágeno auricular, associado à injeção intramuscular de 3 mg de norgestomet + 5 mg de valerato de estradiol, com regime de uma ou duas amamentações diárias. O autor encontrou corpos lúteos com características morfológicas (área máxima de $4,4 \pm 0,7$ cm²) e funcionais (progesterona plasmática média de $4,3 \pm 2,6$ ng/mL) semelhantes aos de animais ciclando regularmente.

A área e o volume dos corpos lúteos de vacas da raça Gir Leiteiro que estavam em anestro pós-parto e se tornaram gestantes após a indução da ovulação com progesterona e estrógeno não diferiram entre

os animais que apresentavam folículos de diâmetro superior ou inferior a 10 mm. A área e o volume médios foram de $2,5 \pm 0,5 \text{ cm}^2$ e $2,7 \pm 0,6 \text{ cm}^3$, respectivamente. Estes valores são semelhantes ao encontrado em vacas da raça Gir ciclando regularmente (área de 2,9 a $3,8 \text{ cm}^2$ e volume de 3,2 a $5,2 \text{ cm}^3$; Borges et al., 2003; e área de $3,2 \text{ cm}^2$; Viana et al., 1999b), mostrando que a indução da ovulação de vacas em anestro foi capaz de levar à formação de corpos lúteos de tamanho normal (Amaral, 2009).

No estudo de Amaral (2009), as concentrações médias de progesterona em vacas Gir gestantes, decorridos oito dias da ovulação induzida pelo tratamento hormonal com progesterona e estrógeno, foram de $2,5 \pm 0,8 \text{ ng/mL}$ e $3,2 \pm 2,1 \text{ ng/mL}$ para as vacas que apresentavam folículos de diâmetro \leq ou $\geq 10 \text{ mm}$ no início do tratamento, respectivamente. Outro estudo envolvendo dosagens periódicas de progesterona, após indução da ovulação de vacas da raça Gir em anestro com progestágeno, mostrou valores entre $2,4 \pm 1,6 \text{ ng/mL}$ e $4,3 \pm 2,6 \text{ ng/mL}$, no período de oito a 28 dias após a ovulação (Borges, 2001). Este mesmo autor demonstrou que em vacas cíclicas das raças Gir e Nelore, a concentração plasmática de progesterona segue perfil ascendente até o 14^o dia do ciclo estral. As maiores concentrações variaram de 3,5 a $5,9 \text{ ng/mL}$ e foram encontradas entre os dias 12,1 e 14,9 do ciclo estral. Estes valores são semelhantes aos relatados por Viana et al. (1999b).

A taxa de concepção tem correlação positiva com a concentração plasmática de progesterona (Thatcher et al., 2001; Bó et al., 2002; Reis, 2004) e com o volume do tecido luteal (Baruselli et al., 2000), que, por sua vez, está relacionado com o tamanho do folículo dominante ovulatório, com a amplitude e a duração do pico de LH (Baruselli et al., 2001). Desta forma, a associação da eCG em protocolos hormonais com progesterona e estradiol pode resultar

em aumento da fertilidade de vacas em anestro pós-parto, e com folículo dominante de menor diâmetro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e caracterização das propriedades e período experimental

O estudo foi realizado em três diferentes propriedades localizadas em Minas Gerais, que criam zebuínos das raças Gir, Indubrasil e azebuados, com o objetivo de produzir animais puros de origem (PO), para reposição dos plantéis, e mestiços F1 Holandês x Zebu, para venda. O experimento foi realizado durante as estações de monta (janeiro a abril) dos anos de 2009 e 2010 na propriedade 1, e no ano de 2010 (fevereiro a junho) nas demais propriedades (2 e 3).

3.1.1 Propriedade 1

Localizada na região norte do estado de Minas Gerais, no município de Capitão Enéas (altitude 571 m, latitude $16^{\circ}19' \text{ S}$, longitude $43^{\circ}42' \text{ O}$), possui área aproximada de 500 hectares, clima tropical semiárido, formada por pastagens de diferentes cultivares de capim buffel (*Cenchrus ciliaris*), capim colônia (*Panicum maximum*), tanzânia (*Panicum maximum*) e braquiária (*Brachiaria brizantha*).

A propriedade apresenta regime de chuvas assimétrico e concentrado entre os meses de outubro a março, com veranicos em janeiro. A pluviosidade foi de 1166 mm no ano agrícola de 2008/2009 (agosto de 2008 a julho de 2009) e de 821 mm em 2009/2010, sendo que as chuvas acumuladas de janeiro e fevereiro de 2010 foram de 94 mm, segundo medidas realizadas por meio de pluviômetros da propriedade (Quadro 1, em anexo).

A fazenda possui aproximadamente 500 animais, sendo 200 fêmeas em idade de

reprodução, que são manejadas em regime de estação de monta (EM) com duração de 120 dias (janeiro a abril). Também é caracterizada por bom controle zootécnico, funcionários bem treinados e pastagens bem manejadas, com suplementação estratégica no período da seca. O rebanho é constituído por animais puros das raças Indubrasil, Gir Leiteiro e seus mestiços.

3.1.2 Propriedade 2

Propriedade de aproximadamente 800 hectares, localizada na região centro-oeste do estado de Minas Gerais, no município de Luz (latitude 19°48' S, longitude 45°41' W e altitude de 675 metros). Apresenta temperatura média anual de 22,1°C (máx. 29,1°C e mín. 16,7°C) e índice pluviométrico anual médio de 1415 mm, segundo www.luz.mg.gov.br.

A fazenda possui rebanho constituído por aproximadamente 1000 matrizes da raça Gir Leiteiro e não adota estação de monta, uma vez que o seu objetivo é de produção de animais mestiços F1 Holandês x Gir para venda contínua. Caracteriza-se pela seleção e melhoria genética da raça Gir, e produção de mestiços F1 há mais de 40 anos, com bom manejo nutricional e escrituração zootécnica, além de assistência veterinária e agrônômica permanente.

As vacas são mantidas em pastagens formadas por *Brachiaria decumbens* e *Brachiaria brizantha*, com suplementação mineral, sendo manejadas em regime de duas amamentações diárias (manhã e tarde), desde o nascimento dos bezerros até 120 dias pós-parto. A partir de 120 dias de idade, as crias são submetidas ao manejo de apenas uma mamada diária até 180 dias, quando então são desmamadas.

3.1.3 Propriedade 3

Localizada na região central do estado de Minas Gerais, no município de Araçá

(altitude 739 m, latitude 19°11' S, longitude 44°14' O), possui aproximadamente 1000 hectares e regime de chuvas anual de 1505 mm (2009), com pluviosidade de 1292 mm no ano agrícola 2009/2010 (agosto de 2009 a julho de 2010), segundo referências da estação meteorológica de Sete Lagoas (www.inmet.gov.br).

A fazenda não adota estação de monta definida, não realiza escrituração zootécnica de todo o rebanho, e não possui acompanhamento técnico, o que favorece a ocorrência de problemas relacionados ao manejo de pastagens, critérios para descarte de animais, dentre outros.

O rebanho é constituído de 400 fêmeas da raça Gir PO em idade reprodutiva, que são utilizadas para a produção e venda de animais puros e mestiços F1 Holandês x Gir, por meio de inseminação artificial. Os animais são mantidos em pastagens de *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria decumbens*, com disponibilidade de sal mineralizado à vontade.

3.2 Critérios de seleção dos animais nas propriedades

Foram utilizadas vacas em anestro pós-parto, amamentando, com ECC igual ou superior a 2,5 (escala 1 a 5), sendo este determinado no início de cada etapa experimental, utilizando-se a metodologia de Ferreira (1990).

No início do estudo foi realizada avaliação reprodutiva por meio de palpação transretal e ultrassonografia (Mindray DPS 2200Vet, transdutor linear de 7,5MHz), excluindo-se animais com útero flácido, retenção de líquido no lúmen uterino e patologias reprodutivas. O anestro foi confirmado pela ausência de corpo lúteo ou tecido luteal.

3.3 Metodologia adotada em cada propriedade

3.3.1 Propriedade 1

O experimento teve duas etapas, sendo a primeira no terço inicial (fevereiro) e a outra no final da EM (abril) dos respectivos anos de avaliação. Durante as estações de monta de 2009 e 2010, vacas com folículo dominante de diâmetro maior ou igual a 10 milímetros foram submetidas a protocolo hormonal à base da inserção de dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona¹ e aplicação de 1,0 mg de benzoato de estradiol² intramuscular no dia da colocação do implante (dia 0). O implante foi mantido por oito dias, e na sua retirada foi aplicado 1,0 mg de cipionato de estradiol³.

A detecção do estro foi realizada visualmente logo após a retirada do implante, duas vezes ao dia, pela manhã (06:00 às 07:00h) e à tarde (18:00 às 19:00h), com o auxílio de um rufião equipado com buçal marcador (proporção rufião/vaca de 1/25). Foram considerados em estro os animais que aceitaram monta pelo rufião ou pelas companheiras do rebanho e/ou que apresentavam intensa marcação pela tinta do buçal marcador.

As inseminações artificiais foram realizadas 12 horas após a detecção de estro ou em

tempo pré-determinado de 48 horas após a retirada do implante, nas fêmeas que não manifestaram estro. As IAs foram realizadas utilizando-se sêmen comercial de qualidade comprovada. Animais que manifestaram estro após a inseminação em tempo pré-determinado, foram reinseminados.

Ao realizar o diagnóstico de gestação em abril, as fêmeas em anestro, as que foram submetidas ao primeiro protocolo e as que pariram no terço inicial da EM, foram submetidas a novo implante intravaginal de progesterona e estrógeno. Os parâmetros de controle estão descritos na Tabela 2.

As respostas estudadas foram taxa de detecção de estro e taxa de gestação.

Análises Estatísticas

O escore de condição corporal foi analisado como variável não paramétrica, empregando-se o teste de Wilcoxon. As taxas de detecção de estro e gestação foram analisadas pelo teste exato de Fisher, utilizando o pacote estatístico *GraphPad InStat 3*. A relação do diâmetro folicular com o ECC foi analisada pela correlação de Pearson. O nível de significância considerado foi de 5%.

Tabela 2. Diâmetro folicular (mm), escore de condição corporal (1 a 5) e dias pós-parto de vacas zebuínas em anestro, no início do tratamento hormonal com progesterona e estrógeno, conforme o ano e período experimental na propriedade 1 (média ± desvio padrão)

Característica	Ano de 2009		Ano de 2010	
	Fevereiro (n = 57)	Abril (n = 47)	Fevereiro (n = 45)	Abril (n = 30)
Diâmetro folicular (mm)	12,5 ± 1,8	11,7 ± 1,7	13,3 ± 2,1	13,2 ± 2,0
Escore corporal (1-5)	3,1 ± 0,4 ^y	3,4 ± 0,4 ^x	3,3 ± 0,3 ^y	3,6 ± 0,4 ^x
Dias pós-parto	89,0 ± 32,3 ^b	107,9 ± 48,0 ^a	61,5 ± 25,6	63,1 ± 31,8

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma linha, dentro de cada ano, diferem (P<0,05) entre si, pelo teste de Student Newman Keuls. ^{x,y}Médias seguidas de letras distintas na mesma linha, dentro de cada ano, diferem (P<0,05) entre si, pelo teste de Wilcoxon.

¹ CIDR® - Pfizer, Brasil

² Estrogin® - Farmavet, Brasil

³ ECP® - Pfizer, Brasil

3.3.2 Propriedade 2

Foram instituídos três tratamentos experimentais, que tiveram como base principal o diâmetro (mm) do maior folículo, avaliado por meio de ultrassonografia ovariana no dia da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona (dia zero). Em todos os tratamentos, associados ou não ao uso de 400 UI de gonadotropina coriônica equina⁴, o implante foi mantido por oito dias, e na sua retirada foi aplicado 1,0 mg de cipionato de estradiol intramuscular.

Tratamento 1 (T1): vacas com folículo dominante de diâmetro inferior a 11 milímetros, submetidas a protocolo hormonal à base da inserção de dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona e aplicação de 1,0 mg de benzoato de estradiol intramuscular no dia da colocação do implante (dia 0), sem associação de eCG.

Tratamento 2 (T2): vacas com folículo dominante de diâmetro inferior a 11 milímetros, submetidas a protocolo

hormonal à base da inserção de dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona e aplicação de 1,0 mg de benzoato de estradiol intramuscular no dia 0, associado à aplicação de 400 UI de eCG na retirada do implante (dia 8).

Tratamento 3 (T3): vacas com folículo dominante de diâmetro maior ou igual a 11 milímetros e submetidas a protocolo hormonal à base da inserção de dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona e aplicação de 1,0 mg de benzoato de estradiol intramuscular no dia da colocação do implante (dia 0), sem associação de eCG.

O estudo foi realizado em duas etapas, sendo trabalhados 59 animais na primeira e 43 na segunda etapa. Como a maior parte dos animais da segunda etapa apresentavam folículos com diâmetro superior a 11 mm, os grupos experimentais foram separados tendo como parâmetro o diâmetro de 12 mm. Os animais foram uniformemente distribuídos segundo o ECC, a idade, a ordem de parto e os dias pós-parto (Tabela 3).

Tabela 3. Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC; 1 a 5), dias pós-parto e ordem de parto de vacas Gir Leiteiro em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguida ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) na propriedade 2 - (média \pm desvio padrão)

ETAPA 1						
Tratamentos	n	Diâmetro folicular (mm)	Idade (anos)	ECC (1-5)	Dias pós-parto	Ordem de parto
T1- FD < 11mm s/ eCG	20	9,3 \pm 1,2 ^b	6,0 \pm 2,7	3,6 \pm 0,2	42,1 \pm 8,2	3,4 \pm 2,1
T2- FD < 11mm c/ eCG	20	9,4 \pm 1,1 ^b	6,0 \pm 3,1	3,4 \pm 0,3	42,2 \pm 7,2	3,4 \pm 2,4
T3- FD \geq 11mm s/ eCG	19	12,5 \pm 1,5 ^a	5,8 \pm 2,2	3,5 \pm 0,3	40,9 \pm 6,7	3,4 \pm 1,8
Total	59	10,4 \pm 1,9	5,9 \pm 2,6	3,5 \pm 0,3	41,8 \pm 7,3	3,4 \pm 2,1
CV (%)		12,1	45,5	-	17,7	62,5
ETAPA 2						
T1- FD < 12mm s/ eCG	14	10,4 \pm 1,3 ^b	7,0 \pm 2,2	3,5 \pm 0,1	49,3 \pm 11,0	4,3 \pm 1,7
T2- FD < 12mm c/ eCG	14	10,1 \pm 1,4 ^b	7,5 \pm 2,0	3,3 \pm 0,3	49,2 \pm 12,0	4,6 \pm 1,7
T3- FD \geq 12mm s/ eCG	15	13,9 \pm 1,8 ^a	6,6 \pm 2,2	3,4 \pm 0,2	49,9 \pm 11,1	4,1 \pm 2,0
Total	43	11,5 \pm 2,3	7,0 \pm 2,1	3,4 \pm 0,2	49,5 \pm 11,1	4,4 \pm 1,8
CV (%)		13,1	30,5	-	23,0	41,6

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) entre si, pelo teste de Student Newman Keuls.

⁴eCG - Folligon® - Schering-Intervet

Devido a um erro metodológico ocorrido na primeira etapa de indução hormonal do estro, as fêmeas foram inseminadas 30 horas após a retirada do implante de progesterona, o que não resultou em gestação. Por isso, os dados desta etapa foram utilizados somente para calcular a taxa de ovulação e de retorno à atividade ovariana, excluindo-se os cálculos de taxa de gestação. Na segunda etapa do experimento, as IAs foram realizadas em tempo pré-determinado de 54 horas após a retirada do implante, sem a detecção de estro.

Posteriormente às IAs, foram realizadas três avaliações ginecológicas por meio de palpação e ultrassonografia transretais, com os objetivos de:

- Confirmar a ovulação (10 dias após a IA), medindo-se a área (cm²) e o volume (cm³) do corpo lúteo das fêmeas que ovularam, e do diâmetro (mm) do maior folículo ovariano dos animais que não ovularam;
- Verificar a manutenção ou não do corpo lúteo (20 dias após a IA), medindo-se a área (cm²) e o volume (cm³) do corpo lúteo das fêmeas que ovularam, e do diâmetro (mm) ovariano nos animais que não ovularam;
- Diagnosticar a gestação (30 dias após a IA), medir a área (cm²) e o volume (cm³) do corpo lúteo das fêmeas que ovularam, independentemente se tornaram gestantes ou não, além de medir o diâmetro (mm) do maior folículo ovariano nos animais que não ovularam.

A vaca foi diagnosticada gestante quando foram confirmados os batimentos cardíacos do embrião pelo ultrassom. A área do tecido luteal (cm²) foi calculada pela diferença entre a área da secção transversal do corpo lúteo e da cavidade luteal, nos casos de corpos lúteos cavitários. O volume do tecido luteal (cm³) e da cavidade do corpo lúteo foi calculada pela fórmula matemática: $V = 4/3\pi.a/2.(b/2)^2$, onde a = eixo longitudinal e b = eixo transversal, modificada de Grygar et al. (1997) por Borges (2001). O volume

da cavidade foi subtraído do volume do corpo lúteo, para determinação do volume dos corpos lúteos cavitários.

Simultaneamente às avaliações realizadas no início do tratamento hormonal (dia 0) e no dia da confirmação da ovulação (10 dias após a IA), foram coletadas amostras de sangue para avaliação da concentração plasmática de progesterona, visando a confirmação do anestro ou da função luteal, além de estudar as correlações entre as medidas luteais e as concentrações plasmáticas de progesterona. As coletas foram realizadas em tubos com vácuo contendo solução anticoagulante (EDTA), por punção da artéria ou veia coccígea. Os tubos foram centrifugados a 3000 rpm (1600 g) logo após a coleta, durante 10 minutos, para separação do plasma sanguíneo, que foi estocado a -20°C.

A dosagem de progesterona foi realizada no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, por meio de radioimunoensaio (RIE), utilizando-se um “Kit” comercial (Coat-a-count Progesterone, TKPG5, Diagnostic Products Corporation - Los Angeles, USA).

As respostas estudadas foram taxa de ovulação; taxa de gestação; área e volume dos corpos lúteos após indução da ovulação; e concentração plasmática de progesterona.

Análises Estatísticas

As variáveis paramétricas e com distribuição normal, tais como medidas foliculares (diâmetro) e luteais (área e volume), idade, dias pós-parto e ordem de parto foram submetidas à análise de variância utilizando-se o programa estatístico SAEG 9.1 (Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG). As possíveis diferenças foram comparadas pelo teste de médias de Student Newman Keuls (SNK) com nível de

significância de 5%. O ECC foi analisado como variável não paramétrica, empregando-se o teste de Kruskal-Wallis. As taxas de ovulação e de gestação foram analisadas pelo teste exato de Fisher, utilizando pacote estatístico *GraphPad InStat 3*. As relações do diâmetro folicular com o ECC, e das medidas luteais (área e volume) com a concentração plasmática de progesterona foram analisadas pela correlação de Pearson. O percentual de retorno à ciclicidade ovariana das vacas não gestantes foi discutido de forma descritiva devido ao pequeno número de observações.

3.3.3 Propriedade 3

Os tratamentos experimentais foram os mesmos descritos anteriormente para a propriedade 2, tendo como parâmetro para formação dos grupos experimentais o diâmetro de 11 mm do maior folículo no dia da colocação do dispositivo intravaginal de progesterona (dia 0), avaliado por ultrassonografia ovariana. Foram utilizadas 111 vacas da raça Gir PO, distribuídas uniformemente segundo a idade, o ECC, o peso e os dias pós-parto. Os dados estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC; 1 a 5), peso vivo (kg) e dias pós-parto de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) na propriedade 3 - (média \pm desvio padrão)

Tratamentos	n	Diâmetro (mm)	Idade (anos)	ECC* (1-5)	Peso (kg)	Dias pós-parto
T1 - FD < 11mm s/ eCG	37	9,7 \pm 1,1 ^b	8,2 \pm 3,4	3,0 \pm 0,3	370,9 \pm 46,6 ^{ab}	127,1 \pm 32,0
T2 - FD < 11mm c/ eCG	37	9,7 \pm 1,2 ^b	7,7 \pm 3,5	2,9 \pm 0,4	354,3 \pm 47,7 ^b	141,0 \pm 26,5
T3 - FD \geq 11mm s/ eCG	37	13,0 \pm 1,2 ^a	6,6 \pm 3,2	3,1 \pm 0,4	381,2 \pm 42,8 ^a	143,4 \pm 37,1
Total	111	10,8 \pm 1,9	7,4 \pm 3,4	3,0 \pm 0,3	368,8 \pm 46,7	137,2 \pm 32,3
CV (%)		10,9	45,0	-	12,4	23,4

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Student Newman Keuls. * ($P > 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.

Assim como descrito na propriedade 1, a detecção do estro foi monitorada duas vezes ao dia com o auxílio de rufião equipado com buçal marcador. As IAs foram realizadas 12 horas após a detecção do estro ou em tempo pré-determinado de 60 horas nas fêmeas que não manifestaram estro, independente do tratamento. Posteriormente às IAs, foram realizadas as mesmas avaliações ginecológicas descritas na propriedade 2, por meio de palpação e ultrassonografia transretal, com os objetivos de confirmar a ovulação (10 dias após a IA), monitorar a permanência do corpo lúteo ou de novas ovulações (20 dias após a IA) e realizar o diagnóstico de gestação (30 dias após a IA).

Além da avaliação do diâmetro folicular (mm) no dia da colocação do implante intravaginal de progesterona (dia 0), foram realizadas avaliações ultrassonográficas na

retirada do implante (dia 8) e no momento da inseminação artificial. Estes dados foram utilizados para calcular a taxa de crescimento folicular (mm/dia), obtida pela diferença dos diâmetros do folículo dominante e dividida pelo período (dias) entre as mensurações.

Assim como na propriedade 2, simultaneamente às avaliações ginecológicas realizadas no início do tratamento hormonal (dia 0) e no dia da confirmação da ovulação (10 dias após a IA), foram coletadas amostras de sangue para dosagem de progesterona, visando confirmar o anestro e avaliar a função luteal, respectivamente.

As respostas avaliadas foram intervalo da retirada do implante ao estro; taxa de crescimento folicular; diâmetro do folículo ovulatório; taxas de detecção do estro, de

ovulação e de gestação; área e volume dos corpos lúteos após a indução da ovulação; e concentração plasmática de progesterona.

Análises Estatísticas

As variáveis paramétricas e com distribuição normal, tais como medidas foliculares (diâmetro e taxa de crescimento) e luteais (área e volume), idade, peso, dias pós-parto, ordem de parto e intervalo da retirada do implante de progesterona ao estro, foram submetidas à análise de variância utilizando-se o programa estatístico SAEG 9.1. As possíveis diferenças foram comparadas pelo teste de médias SNK com nível de significância de 5%. O ECC foi analisado como variável não paramétrica, empregando-se o teste de Kruskal-Wallis. As taxas de detecção de estro, ovulação e gestação foram analisadas pelo teste exato de Fisher, utilizando pacote estatístico *GraphPad Instat 3*. As relações do diâmetro

folicular com o ECC, e das medidas luteais (área e volume) com a concentração plasmática de progesterona foram analisadas pela correlação de Pearson. O percentual de retorno à ciclicidade das vacas não gestantes foi discutido de forma descritiva devido ao pequeno número de observações.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Propriedade 1

4.1.1 Avaliação do efeito do ECC no diâmetro do folículo dominante no início do tratamento hormonal e nas taxas de detecção de estro e gestação em vacas zebu em anestro pós-parto- propriedade 1

Durante os dois anos consecutivos de experimento na propriedade 1, o ECC médio dos animais induzidos à ovulação no final da estação de monta foi maior ($P < 0,05$) que no início da estação (Tabela 5).

Tabela 5. Diâmetro folicular (mm), escore de condição corporal (1 a 5) e dias pós-parto de vacas zebuínas em anestro, no início do tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, conforme o ano e período experimental - propriedade 1 (média \pm desvio padrão)

Característica	Ano de 2009		Ano de 2010	
	Fevereiro (n = 57)	Abril (n = 47)	Fevereiro (n = 45)	Abril (n = 30)
Diâmetro folicular (mm)	12,5 \pm 1,8	11,7 \pm 1,7	13,3 \pm 2,1	13,2 \pm 2,0
Escore corporal (1-5)	3,1 \pm 0,4 ^y	3,4 \pm 0,4 ^x	3,3 \pm 0,3 ^y	3,6 \pm 0,4 ^x
Dias pós-parto	89,0 \pm 32,3 ^a	107,9 \pm 48,0 ^b	61,5 \pm 25,6 ^c	63,1 \pm 31,8 ^c

^{a,b,c}Médias seguidas de letras distintas na mesma linha, dentro de cada ano, diferem ($P < 0,05$) entre si, pelo teste de Student Newman Keuls. ^{x,y}Médias seguidas de letras distintas na mesma linha, dentro de cada ano, diferem ($P < 0,05$) entre si, pelo teste de Wilcoxon.

Provavelmente, esse achado foi reflexo da diferença na disponibilidade e na qualidade das pastagens. Grande parte das fêmeas submetidas ao protocolo de sincronização de ovulação em fevereiro pariram em dezembro e, portanto, passaram maior período da gestação na estação seca, ao contrário das fêmeas que pariram em fevereiro e que foram sincronizadas no final da estação de monta. Esta condição foi ainda mais evidente nas vacas induzidas hormonalmente no início da estação de monta de 2009, pois como as chuvas

atrasaram, com início somente após o dia 10 de novembro do ano anterior (Quadro 2, em anexo), elas tiveram curto período de boa disponibilidade de pastagem, em quantidade e qualidade.

Em 2009, a média de dias pós-parto (dpp) das vacas sincronizadas em abril foi maior que o das vacas sincronizadas em fevereiro devido à ressincronização de 15 vacas (média de 133 dias pós-parto) diagnosticadas não gestantes após o primeiro tratamento hormonal.

Assim como em outros trabalhos, este estudo demonstra a existência de uma correlação positiva do ganho de peso vivo, aqui representado pelo ECC, com a fertilidade de bovinos no pós-parto. Segundo Patil e Deshpande (1981), o peso vivo e o ECC são os fatores que refletem a fisiologia de todos os sistemas orgânicos. Estes autores demonstraram que 56,25% (9/16) das vacas da raça Gir perderam peso do parto até a 12^a semana de lactação, e destas, nenhuma manifestou estro durante este período. Por outro lado, 100% das vacas que ganharam peso corporal (7/16; 2,4 kg por semana) manifestaram o estro, foram cobertas e conceberam no primeiro serviço. Contudo, no presente estudo, a correlação do diâmetro folicular com o ECC de vacas zebuínas em anestro pós-parto foi baixa, igual a 0,16 ($P = 0,015$), possivelmente devido à padronização dos animais quanto a este parâmetro de controle, pois um dos critérios de seleção foi apresentar ECC igual ou superior a 2,5 (escala de 1 a 5).

A associação de estrógeno ao tratamento com progesterona suprime o crescimento folicular em vacas, independente do estágio de desenvolvimento do folículo no início do tratamento (Bó et al., 1995). Esta regressão ocorre tanto nos folículos subordinados, via inibição do FSH pelo estrógeno, quanto no folículo dominante, via inibição do LH pela ação conjunta do estrógeno e progesterona (Martínez et al., 2004). Em torno de 4,3 dias de tratamento (variação de 3 a 5 dias), ocorre a emergência de uma nova onda folicular, da qual originará o folículo dominante (Bó et al., 1995).

A redução na concentração plasmática de progesterona logo após a retirada do implante, associado com a elevada concentração de estrógeno proveniente do folículo dominante e da aplicação de cipionato de estradiol, permitem que a maioria dos animais manifestem o estro dentro de 42 horas (Amaral, 2009), o que também foi observado no presente estudo.

Os percentuais de animais detectados em estro após o tratamento hormonal, foram de 71,9% (41/57) e 70,3% (26/37) no início e final da estação de monta de 2009, e, de 73,3% (33/45) e 63,3% (19/30) no início e final da estação de monta de 2010, respectivamente, sendo verificada a média geral de 70,4% (119/169). Este resultado é considerado satisfatório uma vez que um dos grandes entraves para os sistemas que utilizam inseminação artificial é a elevada taxa de estros não detectados, que pode variar de 30 a 70% (Diskin e Sreenan, 2000). Vários trabalhos têm demonstrado a associação da condição corporal no início do protocolo hormonal com o diâmetro do folículo dominante, com a produção de estrógeno no momento da IATF e com a ocorrência do estro. Da mesma forma, a ocorrência do estro está relacionada com a maior capacidade ovulatória, com a formação de corpo lúteo de maior diâmetro, com a maior concentração plasmática de progesterona, e, conseqüentemente, com a maior taxa de gestação (Meneghetti e Vasconcelos, 2008; Meneghetti et al., 2009; Sá Filho et al., 2009; 2010c; 2011). Sendo assim, a boa condição corporal dos animais no início do tratamento hormonal foi um dos fatores determinantes para alcançar a taxa de detecção de estro obtida no presente estudo.

A taxa de gestação média nos períodos avaliados foi de 46,9% (84/179). Contudo, agrupando os dados referentes aos anos de 2009 e 2010, constatou-se influência ($P=0,0017$) do período da estação de monta em que foi realizada a indução da ovulação sobre o percentual de gestação (Tabela 6). Apesar dos animais induzidos à ovulação no início da estação de monta terem menor ECC que os animais induzidos no final da estação de monta, a taxa de gestação foi superior para os primeiros: fevereiro = 57,8% (59/102) e abril = 32,5% (25/77). Provavelmente, esta diferença é devida às variações das condições climáticas e das pastagens, pois, nesta região, a precipitação e a temperatura ambiente começaram a

diminuir no mês de abril (Quadros 1 e 2, em anexo). Juntamente com a presença constante da cria, as condições ambientais podem ter intensificado os efeitos negativos das condições metabólicas sobre o retorno da ciclicidade ovariana. Os animais que

pariram no final da estação de nascimento e foram sincronizados no final da estação de monta apresentavam melhor ECC, porém, podem ser de menor fertilidade quando comparados aos animais sincronizados no início da estação de monta.

Tabela 6. Vacas zebuínas detectadas em estro que se tornaram ou não gestantes após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, em dois períodos (fevereiro e abril) de duas estações de monta (2009 e 2010) - propriedade 1 (número e %)

2009 + 2010		Com estro		Sem estro		Total de animais	
Períodos		n	%	N	%	n	%
Início (Fevereiro)	Gestantes	44	74,6%	15	25,4%	59	57,8% ^a
	Não gestantes	30	69,8%	13	30,2%	43	42,2% ^b
	Total	74	72,5%	28	27,5%	102	100%
Final (Abril)*	Gestantes	16	72,7%	6	27,3%	22	32,8% ^b
	Não gestantes	29	64,4%	16	35,6%	45	67,2% ^a
	Total	45	67,2%	22	32,8%	67	100%
Total geral		119	70,4%	50	29,6%	169	100%

^{a,b}Percentual de gestação, seguido de letras distintas na mesma coluna, diferem ($P < 0,05$) entre si, pelo teste exato de Fisher. *10 animais foram excluídos devido à perda de dados

O percentual de gestação dos animais detectados em estro foi de 50,4% (60/119) e não diferiu ($P=0,399$) do percentual obtido para os animais não detectados em estro, 42% (21/50), mas que foram submetidos à IA 48 horas após a retirada do implante de progesterona. Sendo assim, nas condições específicas deste experimento, o fato dos animais expressarem o comportamento de estro não foi determinante para o índice de gestação.

Em torno de 74,1% (60/81) dos animais gestantes e 67% (59/88) dos animais não gestantes foram detectados em estro. A constatação de que a observação do estro pode ser desnecessária deve ser interpretada com cautela, pois no presente estudo, houve uma pré-seleção dos animais quanto ao ECC e tamanho folicular, excluindo assim, os animais que teriam menor potencial para responder ao tratamento hormonal.

Resultados diferentes foram obtidos em trabalhos nos quais a variação da condição corporal entre os animais foi mais ampla, como é o caso de um recente estudo com

vacas zebuínas, sincronizadas entre 30 e 60 dias pós-parto, no qual a ocorrência do estro teve influência sobre as taxas de ovulação e gestação. Adicionalmente, a detecção do estro foi associada ao diâmetro do folículo dominante no momento da IATF, que, por sua vez, influenciou nas taxas de ovulação e gestação (Sá Filho et al., 2010c). Da mesma forma, Baruselli et al. (2011) demonstraram que vacas Nelore lactantes que manifestaram estro após o protocolo de sincronização da ovulação tiveram maior ($P=0,003$) taxa de concepção, 54,2% (199/367) que as vacas que não manifestaram este comportamento, 38,7% (48/124). Resultados semelhantes foram obtidos por Borges et al. (2011) ao realizarem protocolo hormonal em vacas Nelore pluríparas ($n = 5491$) entre 40 e 60 dias pós-parto, verificando-se influência do ECC sobre a taxa de manifestação de estro, além de influência da detecção de estro sobre a taxa de gestação.

Dentre os animais não gestantes, o percentual de retorno à atividade ovariana luteal cíclica não diferiu ($P=0,834$) entre as etapas experimentais, sendo de 41,9%

(18/43) e 38,5% (20/52) nos trabalhos realizados no início e final da EM, respectivamente (Tabela 7). Ao final do experimento de 2009 e 2010, o percentual de

animais que mantiveram a condição de anestro em relação ao total de animais sincronizados foi de 36,5% (38/104) e 25,3% (19/75), respectivamente.

Tabela 7. Vacas zebuínas que não se tornaram gestantes, mas retornaram à atividade ovariana cíclica após tratamento hormonal para indução da ovulação, em duas épocas das estações de monta dos anos de 2009 e 2010 - propriedade 1 (número e %)

	Fevereiro 2009		Fevereiro 2010		Abril 2009		Abril 2010		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Mantiveram o anestro	20	83,3	5	26,3	18	51,4	14	82,4	57	60,0
Recuperaram atividade luteal	4	16,7	14	73,7	17	48,6	3	17,6	38	40,0

Apesar de não ter sido realizada a confirmação da ovulação logo após o final do tratamento hormonal, possivelmente, parte dos animais ovulou, mas os corpos lúteos formados eram de curta duração, como descrito em vacas da raça Gir em anestro pós-parto tratadas com acetato de buserelina e gonadotrofina coriônica humana (Borges et al., 2004). Estes autores relataram que os corpos lúteos formados após os tratamentos hormonais são menores (área máxima de 1,9 cm²) que os de vacas ciclando. Além disso, apresentam baixa atividade funcional, demonstrada por manutenção das concentrações plasmáticas de progesterona inferiores a 1 ng/mL. A luteólise prematura pode ser consequência, dentre outros fatores, da baixa capacidade estrogênica do folículo pré-ovulatório, da inibição incompleta dos receptores de ocitocina no endométrio e da liberação de prostaglandina após a indução desencadeada pela ligação da ocitocina com seu receptor (Mann e Lamming, 2000). Desta forma, o curto período de persistência e a baixa atividade funcional do corpo lúteo não são suficientes para o restabelecimento dos estoques hipofisários de LH, necessários para estimular a produção de andrógenos e estrógenos pelos folículos dominantes. Não ocorrendo a elevação da concentração plasmática de estradiol para induzir o pico de LH, o folículo dominante não completa sua maturação final e entra em atresia, persistindo a condição de anestro.

A taxa de 57,8% (59/102) de gestação obtida no início do experimento demonstrou o elevado potencial ovulatório de vacas zebu que apresentavam folículo dominante de diâmetro igual ou superior a 10 mm e se encontravam em anestro pós-parto, quando submetidas a protocolo hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, corroborando com os achados de Amaral (2009).

Os resultados encontrados no presente estudo sugerem que o diâmetro folicular associado à boa condição corporal podem ser utilizados como critérios para selecionar quais vacas zebuínas em anestro pós-parto seriam indicadas para o protocolo de sincronização da ovulação, pois o diâmetro do folículo dominante parece ser um indicador da maturidade folicular e do subsequente potencial de ovulação e fertilidade, nas fêmeas *Bos taurus taurus* (Burke et al., 2001; Sartori et al., 2001; Vasconcelos et al., 2001), *Bos taurus indicus* (Gimenes et al., 2008, Amaral, 2009) e mestiças F1 Holandês x Zebu (Carvalho et al., 2007; Borges et al., 2008).

4.2 Propriedade 2

Na Tabela 8 estão os parâmetros de controle referentes às duas etapas experimentais na propriedade 2, onde foi verificada diferença (P<0,05) apenas para o diâmetro folicular ao início do experimento, que foi a premissa

para a separação dos grupos experimentais. Como houve pouca variação da condição corporal entre os animais, a correlação entre

diâmetro folicular e o escore de condição corporal foi baixa ($r = 0,06$) e não significativa ($P=0,278$).

Tabela 8. Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5), dias pós-parto e ordem de parto de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido ou não à aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 2 (média \pm desvio padrão)

ETAPA 1						
Tratamentos	n	Diâmetro folicular (mm)	Idade (anos)	ECC (1-5)	Dias pós-parto	Ordem de parto
T1- FD < 11mm s/ eCG	20	9,3 \pm 1,2 ^b	6,0 \pm 2,7	3,6 \pm 0,2	42,1 \pm 8,2	3,4 \pm 2,1
T2- FD < 11mm c/ eCG	20	9,4 \pm 1,1 ^b	6,0 \pm 3,1	3,4 \pm 0,3	42,2 \pm 7,2	3,4 \pm 2,4
T3- FD \geq 11mm s/ eCG	19	12,5 \pm 1,5 ^a	5,8 \pm 2,2	3,5 \pm 0,3	40,9 \pm 6,7	3,4 \pm 1,8
Total	59	10,4 \pm 1,9	5,9 \pm 2,6	3,5 \pm 0,3	41,8 \pm 7,3	3,4 \pm 2,1
CV (%)		12,1	45,5	-	17,7	62,5
ETAPA 2						
T1- FD < 12mm s/ eCG	14	10,4 \pm 1,3 ^b	7,0 \pm 2,2	3,5 \pm 0,1	49,3 \pm 11,0	4,3 \pm 1,7
T2- FD < 12mm c/ eCG	14	10,1 \pm 1,4 ^b	7,5 \pm 2,0	3,3 \pm 0,3	49,2 \pm 12,0	4,6 \pm 1,7
T3- FD \geq 12mm s/ eCG	15	13,9 \pm 1,8 ^a	6,6 \pm 2,2	3,4 \pm 0,2	49,9 \pm 11,1	4,1 \pm 2,0
Total	43	11,5 \pm 2,3	7,0 \pm 2,1	3,4 \pm 0,2	49,5 \pm 11,1	4,4 \pm 1,8
CV (%)		13,1	30,5	-	23,0	41,6

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P<0,05$) entre si, pelo teste de Student Newman Keuls.

O ECC dos animais nesta propriedade é reflexo do bom manejo nutricional baseado em disponibilidade de pastagens de boa qualidade, associado ao controle da amamentação. Desta forma, evita-se intensa mobilização de reservas corporais no pós-parto, uma das principais causas da baixa eficiência reprodutiva (Butler et al., 1981; Staphes e Thatcher, 1990; Ferreira, 1993). A subnutrição, seja por inadequado nível nutricional ou pela ingestão de nutrientes aquém da demanda, é o principal fator que favorece o anestro pós-parto de animais mantidos em pastos (Nett, 1987; Jolly et al., 1995), como foi o caso do presente estudo.

Na propriedade 2, foi realizada somente inseminação em tempo fixo, portanto não foram mensuradas as taxas de detecção de estro, de crescimento folicular e as médias do intervalo da retirada do implante de progesterona à manifestação do estro.

4.2.1 Avaliação do diâmetro do folículo dominante no momento da realização do

protocolo hormonal associado (T2) ou não (T1 e T3) ao uso de eCG sobre as taxas de ovulação, a área e o volume dos corpos lúteos e a concentração plasmática de progesterona - propriedade 2

A Tabela 9 contém a taxa de ovulação, as medidas luteais e as concentrações plasmáticas de progesterona 10 dias após a indução da ovulação em vacas da raça Gir Leiteiro, não sendo verificadas diferenças ($P>0,05$) entre os animais dos grupos experimentais agrupados. Contudo, no estudo conduzido por Amaral (2009), com vacas Gir Leiteiro em anestro pós-parto, os animais com folículo dominante de diâmetro igual ou superior a 10 mm no início do tratamento hormonal apresentaram maior ($P<0,05$) taxa de ovulação (88%; 22/25) que os animais com folículo de diâmetro inferior, 60% (15/25). No mesmo estudo, o menor diâmetro folicular (9,5 \pm 2,3 mm vs 11,3 \pm 1,9 mm) ao final do tratamento com progesterona e estrógeno foi relacionado com a baixa porcentagem de ovulação.

Tabela 9. Taxas de ovulação (%), área (cm²) e volume (cm³) dos corpos lúteos (média ± desvio padrão) e concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) dez dias após a indução da ovulação de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não (T1 e T3) à aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 2

Tratamentos	n	Ovulações		Área do tecido luteal (cm ²)	Volume do tecido luteal (cm ³)	Concentração plasmática de progesterona (ng/ml)
		n	%			
T1 - FD < 11mm s/ eCG	34	27	79,4%	2,4 ± 0,7	2,6 ± 1,1	3,5 ± 2,1
T2 - FD < 11mm c/ eCG	34	30	88,2%	2,8 ± 1,0	3,2 ± 1,8	3,8 ± 2,2
T3 - FD ≥ 11mm s/ eCG	34	28	82,3%	2,6 ± 0,8	3,1 ± 1,3	3,6 ± 1,5
Total	102	85	83,3%	2,6 ± 0,8	3,0 ± 1,5	3,6 ± 2,0

Apesar da maioria dos estudos mostrarem que a utilização de eCG no proestro incrementa a eficiência dos protocolos de sincronização de ovulação em vacas paridas (Roche et al., 1992; Bó et al., 2003; Baruselli et al., 2003; 2004b; Souza et al., 2009; Sá Filho et al., 2010a; Sales et al., 2011), alguns autores não demonstraram aumento da fertilidade sob determinadas circunstâncias (Kastelic et al., 1999; Cutaia et al., 2003; Pinheiro, 2006; Ereno et al., 2007). Os motivos destes resultados conflitantes podem estar relacionados com diferenças quanto à incidência de vacas em anestro, condição corporal dos animais, período pós-parto no qual iniciou o protocolo hormonal, raça dos animais, manejo de amamentação e delineamento experimental (Sá Filho et al., 2010a; Sales et al., 2011).

Vacas em anestro pós-parto apresentam comprometimento na pulsatilidade de LH, principalmente quando mantidas sob condições de pastejo e amamentando (McDougall et al., 1995; Wiltbank et al., 2002). A progesterona exógena aumenta a frequência dos pulsos de LH durante e após o tratamento (Rhodes et al., 2002), porém, em rebanhos com alta proporção de vacas em anestro e/ou com baixa condição corporal, a eficiência do tratamento pode ser comprometida (Baruselli et al., 2004a). Desta forma, a associação da eCG, que tem atividade de LH e FSH (Murphy e Martinuk, 1991), ao protocolo hormonal para indução e

sincronização da ovulação poderia favorecer o crescimento folicular, o tamanho do folículo ovulatório e, conseqüentemente, melhorar os percentuais de ovulação e concepção (Sá Filho et al., 2010a, Sales et al., 2011).

O efeito do tratamento com eCG parece ser dependente da condição corporal, do status metabólico e da condição ovariana dos animais, pois em condições mais desafiadoras, ou seja, nas vacas em anestro pós-parto recente, com baixo ECC, amamentando (*Bos indicus*; Baruselli et al., 2004b; Ayres et al., 2007; Sá Filho et al., 2010a; Sales et al., 2011) ou em lactação (*Bos taurus*; Souza et al., 2009), a utilização da eCG tem sido mais eficiente para maximizar a resposta ao tratamento hormonal.

Possivelmente, a semelhança dos resultados observados nos três tratamentos realizados na propriedade 2 se deve à associação de diferentes fatores determinantes para a ocorrência da ovulação, tais como: boa condição corporal (≥ 3; escala de 1 a 5) dos animais e amamentação controlada (Ferreira, 1990); presença de folículo dominante maduro e responsivo aos estímulos pré-ovulatórios no momento da indução do estro (Burke et al., 2001); e, pulsos de LH com frequência (aproximadamente um pulso por hora) e amplitude suficientes para estimular o crescimento folicular com produção máxima de estradiol, desencadeando a onda

pré-ovulatória de LH, responsável pelo estágio final de maturação do folículo dominante (Roche et al., 1992).

Apesar da diferença no diâmetro folicular entre os grupos experimentais, acredita-se, com base na semelhança das taxas de ovulação, que o status metabólico dos animais não diferiu o suficiente para que a associação de eCG ao protocolo proporcionasse incremento significativo na fertilidade. A boa condição corporal e a sua semelhança entre os grupos, associado ao tratamento hormonal precoce no pós-parto e ao controle da amamentação, provavelmente, foram importantes fatores para a obtenção dos resultados satisfatórios e homogêneos obtidos no presente estudo.

Embora não tenha ocorrido diferença ($P > 0,05$) entre os tratamentos quanto à área e volume do tecido luteal, os animais que receberam eCG foram os que apresentaram corpos lúteos com área ($2,8 \pm 1,0 \text{ cm}^2$) e volume ($3,2 \pm 1,8 \text{ cm}^3$) mais próximos aos verificados em vacas cíclicas da raça Gir, que variam de 2,9 a 3,8 cm^2 e 3,2 a 5,2 cm^3 , respectivamente (Borges et al., 2003). Os corpos lúteos resultantes da ovulação induzida mostraram funcionalidade normal e semelhante entre os tratamentos, confirmada pelas concentrações plasmáticas de progesterona obtidas (Tabela 9).

Segundo Borges (2001), as concentrações plasmáticas de progesterona dos bovinos apresentam variações durante o ciclo estral, e são correlacionadas com a funcionalidade do corpo lúteo. Este mesmo autor observou que as maiores concentrações, em fêmeas Gir e Nelore ciclando regularmente, foram encontradas entre os dias 12,1 e 14,9 do ciclo estral e variaram de 3,5 a 5,9 ng/mL, resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo.

A correlação da área e do volume dos corpos lúteos foi de 0,66 ($P = 0,0001$), e da área dos corpos lúteos com a concentração plasmática

de progesterona 10 dias após a indução da ovulação, foi de 0,61 ($P = 0,0001$), indicando que a concentração circulante de progesterona pode estar relacionada com o tamanho do corpo lúteo.

4.2.2 Taxas de gestação aos 30 dias e de retorno à atividade ovariana luteal cíclica de vacas da raça Gir Leiteiro que não se tornaram gestantes após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 2

Devido a um erro na metodologia, as 59 vacas submetidas ao tratamento hormonal na primeira etapa foram inseminadas em torno de 30 horas após a retirada do implante de progesterona, e não depois de 48 horas, como estava previsto. Nenhum animal (0%) tornou-se gestante após o tratamento hormonal. O curto intervalo da remoção do implante à inseminação foi responsável por este resultado, considerando que 83,1% (49/59) das vacas tiveram a ovulação confirmada dez dias após as inseminações.

Os estudos com tratamento hormonal à base de progesterona/progestágeno e estrógeno em fêmeas zebuínas puras ou cruzadas demonstram que o intervalo médio da retirada do implante à ovulação varia de 70 a 78 horas, sendo que não há diferença quando a eCG é associada ou não ao protocolo (Marques et al., 2003; Baruselli et al., 2004; Maraña et al., 2006; Sá Filho et al., 2010a). Com base no estudo de Trimberger (1948), o melhor momento para inseminar as vacas é de 13 a 18 horas antes da ovulação, período no qual o autor obteve o maior índice de gestação. Como o período médio de sobrevivência dos espermatozoides no trato reprodutivo da fêmea bovina após a IA varia de 24 a 48 horas (Senger, 2005), acredita-se que durante a primeira etapa experimental na propriedade 2, houve assincronia em relação ao tempo das inseminações artificiais e a ovulação, com provável morte dos espermatozoides antes da ovulação.

Na segunda etapa experimental, embora um percentual significativo das fêmeas tenha ovulado (83,7%) a partir do protocolo hormonal, ao realizar o diagnóstico

ginecológico 30 dias após as inseminações artificiais foi constatado que, em média, 42% do total de vacas sincronizadas se tornaram gestantes (Tabela 10).

Tabela 10. Taxas de gestação aos 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir Leiteiro em relação ao total de animais sincronizados e ovulados, durante a segunda etapa experimental da propriedade 2 (número e %)

Tratamentos	Vacas que ovularam			Vacas gestantes em relação ao total de animais		Vacas gestantes entre as que ovularam	
	n	n	%	n	%	n	%
T1 - FD < 12mm sem eCG	14	11	78,6%	6	42,9%	6	54,5%
T2 - FD < 12mm com eCG	14	13	92,8%	6	42,9%	6	46,1%
T3 - FD ≥ 12mm sem eCG	15	12	80,0%	6	40,0%	6	50,0%
Total	43	36	83,7%	18	41,9%	18	50,0%

Ao observar os resultados obtidos, não é possível responsabilizar algum fator ocorrido pela influência negativa na taxa de gestação dos animais que ovularam. Vários pontos críticos poderiam ter afetado o sucesso da IA, entre eles, citam-se a qualidade do sêmen e a habilidade do inseminador. Contudo, como as inseminações foram realizadas em tempo pré-determinado, ou seja, não foi considerada a observação do estro, acredita-se que um dos principais fatores que influenciaram no resultado tenha sido a assincronia da ovulação com o momento da inseminação. Como todos os animais estavam em anestro pós-parto, outro fator que pode ter influenciado na fertilidade das vacas que ovularam logo após o tratamento hormonal é a formação de corpos lúteos de vida curta, apesar das médias das concentrações plasmáticas de progesterona obtidas dez dias após as IAs não diferirem entre os grupos experimentais, 55,5% (10/18) das vacas retornaram ao anestro.

Assim como na comparação das médias de taxa de gestação obtidas para os animais tratados (41,9%), não houve diferença nas taxas de gestação entre os grupos de vacas que ovularam, obtendo-se média geral de 50,0% ($P > 0,05$). Estes resultados, na mesma ordem, são semelhantes aos de diversos estudos envolvendo tratamentos com

progesterona e estrógeno: 52,6% (153/291) e 58,1% (150/258), relatados por Martins Jr. et al. (2005) em vacas zebuínas de corte no pós-parto (40 a 110 dias, com ECC = $3,1 \pm 0,5$); 52% (13/25) e 59,1% (13/22), obtidos por Amaral (2009) em vacas da raça Gir em anestro pós-parto apresentando folículos dominantes com diâmetro médio igual a $10,8 \pm 0,9$ mm no início do tratamento hormonal, porém, com observação de estro seguida de inseminação; e, 49,4% (266/538) e 58,9% (99/168) de gestação obtidos por Meneghetti e Vasconcelos (2008) em vacas Nelore e mestiças F1 Nelore x Red Angus entre 33 e 104 dias pós-parto.

Utilizando o mesmo protocolo hormonal do tratamento 1 em vacas mestiças F1 Holandês x Zebu em anestro pós-parto e apresentando diâmetro folicular médio de $14,0 \pm 2,1$ mm no início do tratamento, Carvalho et al. (2007) obtiveram 35,5% (11/32) de taxa de gestação. Em relação aos animais que ovularam, 47,8% (11/23) tornaram-se gestantes.

Ao contrário do presente experimento, no estudo de Amaral (2009), as vacas com folículo dominante de diâmetro superior a 10 mm no início do tratamento hormonal possuíam ECC mais alto ($P < 0,05$) e apresentaram maior taxa de gestação, 52% (13/25) quando comparadas com vacas que

possuíam folículo dominante inferior a 10 mm de diâmetro, 20% (5/25). Isto é indicativo de que a resposta ao tratamento hormonal com progesterona e estrógeno em vacas da raça Gir em anestro pós-parto não depende somente do diâmetro do folículo dominante no início do tratamento, mas também da condição corporal.

Assim como no presente estudo, em novilhas da raça Nelore que não apresentavam corpo lúteo no início do tratamento com progestágeno e estrógeno, a taxa de gestação dos animais que ovularam após a IATF não diferiu ($P > 0,05$) entre os grupos que receberam ou não eCG, verificando-se médias de 37,0% (10/27) e 30,0% (6/20), respectivamente (Sá Filho et al., 2010b). Em outro estudo com IATF, realizado com vacas Zebu e mestiças de corte após o parto (30 a 60 dias), observou-se que as taxas de gestação das vacas que ovularam após o tratamento hormonal foram de 32,4%, 50,3%, 60,0% e 68,2% ($P < 0,05$) para os animais com folículos dominantes de diâmetros inferiores a 7,5 mm, entre 7,5 e 11,0 mm, de 11,1 a 14,4 mm, ou superiores a 14,4 mm no momento da IA, respectivamente (Sá Filho et al., 2010c).

Os resultados obtidos no presente estudo são similares aos de Martins Jr. et al. (2005). Estes autores descreveram que a eCG é dispensável em protocolos de sincronização da ovulação a base de progesterona e benzoato de estradiol em vacas zebuínas paridas, uma vez que não foram verificadas diferenças nas taxas de ovulação, gestação e

concepção (gestantes/ovuladas) entre as vacas que receberam ou não eCG. Todavia, os resultados diferiram dos de Ayres et al. (2007), com vacas Nelore lactantes, que demonstraram aumento da taxa de gestação ao utilizar eCG em programas de IATF até 60 dias pós-parto, independente da condição corporal dos animais.

No presente estudo, é necessário considerar que o manejo de amamentação adotado, associado ao bom escore de condição corporal dos grupos experimentais (média de $3,5 \pm 0,2$), provavelmente foram fatores que interferiram na resposta da eCG, que não incrementou as taxas de gestação dos animais submetidos ao tratamento hormonal.

A adoção de manejos de amamentação está relacionada com o aumento da frequência dos pulsos de LH e com o aumento da taxa ovulatória de bovinos, principalmente quando as vacas permanecem sem contato visual ou olfativo com seus bezerros (Stagg et al., 1998). Segundo Diskin et al. (2001), o efeito da amamentação, mediado pelo contato físico e pelo vínculo da vaca com sua cria estabelecido no momento do parto, é considerado como o principal fator que compromete o retorno à ciclicidade ovariana, seguido pelo ECC ao parto, que é reflexo do nível nutricional pré-parto.

A Tabela 11 apresenta o número de vacas que não se tornaram gestantes e mantiveram-se em anestro ou apresentavam corpo lúteo aos 30 dias após as IAs.

Tabela 11. Animais não gestantes que apresentavam corpo lúteo (CL) ou que retornaram ao anestro após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG), na segunda etapa experimental da propriedade 2

Tratamento	n	Não ovuladas		Ovuladas não gestantes		Total
		Apresentavam CL	Mantiveram-se em anestro	Apresentavam CL	Retornaram ao anestro	
T1 - FD < 12mm s/ eCG	14	0	3	3	2	8
T2 - FD < 12mm c/ eCG	14	0	1	2	5	8
T3 - FD ≥ 12mm s/ eCG	15	1	2	3	3	9

Todos os animais (T1 = 3/3; T2 = 1/1 e T3 = 2/3) que não ovularam após protocolo hormonal mantiveram-se em anestro até 30 dias após as IAs, exceto uma vaca do grupo T3. Dos animais que ovularam e não se tornaram gestantes (T1 = 5; T2 = 7 e T3 = 6), os percentuais que mantiveram a ciclicidade foram de 60,0% (3/5), 28,6% (2/7) e 50,0% (3/6), enquanto os que retornaram ao anestro foram de 40,0% (2/5), 71,4% (5/7) e 50,0% (3/6), respectivamente. Desta forma, as taxas de anestro aos 30 dias após as IAs para os tratamentos T1, T2 e T3 foram de 35,7% (5/14), 42,9% (6/14) e 33,3% (5/15), respectivamente.

Tabela 12. Área (cm²) e volume (cm³) dos tecidos luteais 10, 20 e 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir Leiteiro que se tornaram gestantes após terem submetidas ao tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 2 (média ± desvio padrão)

Tratamento	Propriedade 2		Dias após a inseminação artificial			
	n		10	20	30	Média
T1 - FD < 12mm s/ eCG	6	Área (cm ²)	2,7 ± 0,3	2,6 ± 0,3	2,8 ± 0,4	2,7 ± 0,3
		Volume (cm ³)	3,0 ± 0,6	2,7 ± 0,7	2,8 ± 1,1	2,8 ± 0,8
T2 - FD < 12mm c/ eCG	6	Área (cm ²)	2,9 ± 0,9	2,8 ± 0,7	2,9 ± 0,5	2,9 ± 0,6
		Volume (cm ³)	3,8 ± 1,7	3,5 ± 1,4	3,3 ± 0,8	3,5 ± 1,2
T3 - FD ≥ 12mm s/ eCG	6	Área (cm ²)	2,8 ± 0,5	2,6 ± 0,4	2,9 ± 0,3	2,7 ± 0,4
		Volume (cm ³)	3,4 ± 1,2	3,3 ± 0,8	3,4 ± 0,8	3,4 ± 0,9

O tamanho dos corpos lúteos foi semelhante ao de vacas Gir ciclando regularmente, com área de 2,9 a 3,8 cm² e volume de 3,3 a 5,2 cm³ (Borges, 2001), mostrando que os protocolos utilizados para indução da ovulação de vacas Gir em anestro foram capazes de levar à formação de corpos lúteos de tamanho normal. Resultados semelhantes (área de 2,5 ± 0,5 cm²) com animais gestantes foram obtidos por Amaral (2009) após indução da ovulação de vacas Gir em anestro pós-parto com progesterona e estrógeno e por Viana et al. (1999b), que também trabalharam com vacas Gir ciclando regularmente e encontraram corpos lúteos com área média de 3,1 ± 0,1 cm².

4.3 Propriedade 3

4.2.3 Área e volume dos corpos lúteos de vacas da raça Gir Leiteiro gestantes, após tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 2

Não houve diferença (P>0,05) entre tratamentos quanto à área (cm²) e volume (cm³) dos corpos lúteos de vacas gestantes quando se analisou os diferentes períodos de avaliação (Tabela 12). Tanto a área quanto o volume dos corpos lúteos não diferiu ao longo das diferentes avaliações realizadas após as inseminações artificiais sendo, em média, 2,8 ± 0,5 cm² e 3,3 ± 1,0 cm³.

4.3.1 Escore de condição corporal (ECC) e diâmetro do folículo dominante no início e final dos tratamentos hormonais, e no momento das inseminações de vacas Gir em anestro pós-parto - propriedade 3

O ECC não diferiu (P>0,05) entre os grupos (Tabela 13), porém, a média do peso vivo (381,22 ± 42,83 kg) dos animais com folículos de diâmetro superior a 11 mm (T3) foi maior (P<0,05) que a do T2 (354,27 ± 47,71 kg), com baixa correlação entre diâmetro folicular e ECC, 0,24 (P=0,007).

No presente estudo, a diferença no diâmetro folicular inicial entre os grupos experimentais, pode ser reflexo, dentre outros fatores, da diferença de peso e condição metabólica dos animais.

Tabela 13. Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal, idade (anos), escore de condição corporal (ECC, 1 a 5), peso vivo (kg) e dias pós-parto de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG; T1 e T3) - propriedade 3 (média \pm desvio padrão)

Tratamentos	n	Diâmetro (mm)	Idade (anos)	ECC* (1-5)	Peso (kg)	Dias pós-parto
T1 - FD < 11mm s/ eCG	37	9,7 \pm 1,1 ^b	8,2 \pm 3,4	3,0 \pm 0,3	370,9 \pm 46,6 ^{ab}	127,1 \pm 32,0
T2 - FD < 11mm c/ eCG	37	9,7 \pm 1,2 ^b	7,7 \pm 3,5	2,9 \pm 0,4	354,3 \pm 47,7 ^b	141,0 \pm 26,5
T3 - FD \geq 11mm s/ eCG	37	13,0 \pm 1,2 ^a	6,6 \pm 3,2	3,1 \pm 0,4	381,2 \pm 42,8 ^a	143,4 \pm 37,1
Total	111	10,8 \pm 1,9	7,4 \pm 3,4	3,0 \pm 0,3	368,8 \pm 46,7	137,2 \pm 32,3
CV (%)		10,9	45,0	-	12,4	23,4

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Student Newman Keuls. * ($P > 0,05$) pelo teste de Kruskal-Wallis.

Segundo Russel e Wright (1983), citado por Ferreira (1990), as variações de peso vivo e condição corporal refletem o nível nutricional do animal a longo tempo, enquanto as concentrações de alguns parâmetros sanguíneos representam medidas mais imediatas da condição energética. Apesar da mensuração do diâmetro folicular ter sido realizada no dia da distribuição dos animais nos respectivos grupos experimentais, e pelo fato de não terem sido realizadas análises dos hormônios metabólicos, acredita-se que os animais com folículos dominantes de maior diâmetro possuam melhor condição metabólica ou que experimentaram menor intensidade de BEN, o que poderia resultar em maior frequência dos pulsos de LH e, maiores concentrações plasmáticas de insulina e IGF-I.

De acordo com Diskin et al. (2003), além da redução na secreção de gonadotropinas, vacas em balanço energético negativo apresentam menores concentrações intra-foliculares de IGF-I livre, menor persistência, menor diâmetro máximo e menor taxa de crescimento do folículo dominante, além de maior sensibilidade ao efeito negativo do estradiol sobre a liberação de gonadotropinas (Wiltbank et al., 2002; Bó et al., 2003).

Nesta propriedade, a baixa condição corporal na maioria dos animais deve ser reflexo do manejo de pastagem deficiente em decorrência da falta de assistência técnica regular e da permanência constante das vacas com suas crias. Apesar de não ter o peso ao parto, o ECC dos animais no início do tratamento hormonal sugere que estes já pariram com pouca reserva corporal de gordura ou tiveram perda significativa de peso nos primeiros meses após o parto. É necessário considerar também as modificações hormonais e metabólicas de vacas da raça Gir que, devido à sua considerável habilidade leiteira e materna, priorizam o estado fisiológico da lactação (Ruiz-Córtes e Oliveira-Angel, 1999; Borges, 2001).

Para Moore e Rocha (1983), a velocidade na perda de peso tem mais influência no bloqueio da atividade ovariana do que o total de peso perdido, contudo, quanto maior a perda de peso corporal (12,9% vs 16,0%), maior é o intervalo do parto à concepção, sendo relatadas médias de 116,0 \pm 16,0 vs 160,4 \pm 19,7 dias, respectivamente ($P < 0,05$). Dias (1991) correlacionou a perda de peso no pós-parto à demora em conceber, e verificou que para cada 10% de peso vivo perdido, ocorrem aumento de 13 dias no intervalo parto-concepção. Em vacas de corte européias, o anestro no pós-parto é

prolongado em 43 dias para cada ponto de escore de condição corporal perdido após o parto (Wright et al., 1987).

Em vacas leiteiras, o atraso na ovulação pós-parto está diretamente associado ao “status” energético do animal, sendo que a primeira ovulação ocorre entre 10 e 14 dias após o *nadir* do BEN (Butler e Smith, 1989; Beam e Butler, 1997; 1999). O consumo de matéria seca pós-parto está relacionado com o ECC ao parto, e conseqüentemente, com a intensidade e duração do BEN (Butler, 2000). Então, severas perdas de peso e de condição corporal estão associadas com o prolongamento do anestro pós-parto (Butler et al., 1981; Staples e Thatcher, 1990; Ferreira, 1993; Montiel e Ahuja, 2005).

O trabalho de Butler e Smith (1989) reforçou esta teoria, demonstrando que a excessiva mobilização de reserva corporal no pós-parto recente pode predizer o atraso do restabelecimento da atividade ovariana luteal cíclica em vacas leiteiras, fato que pode ter acontecido no presente estudo e que ajudaria a explicar o anestro dos animais aos 120 dias após o parto. Estes autores agruparam as vacas leiteiras *Bos taurus taurus* conforme a perda de escore de condição corporal durante os primeiros 40 dias de lactação da seguinte forma: G1, vacas que perderam menos de 0,5 unidade; G2, vacas que perderam entre 0,5 e 1,0 unidade; e G3, animais que perderam mais que 1,0 unidade de escore corporal. Os intervalos do parto à primeira ovulação e as taxas de concepção ao primeiro serviço para os grupos 1, 2 e 3, foram de 27 ± 2 dias, 31 ± 2 dias e 42 ± 5 dias e $65\%^a$, $53\%^a$ e $17\%^b$, respectivamente. Fato semelhante também foi reportado por Staples e Thatcher (1990) e Butler (2005), os quais demonstraram que a taxa de concepção diminuiu 10% para cada 0,5 unidade de escore de condição corporal perdida no pós-parto.

No início da lactação, vacas leiteiras de alta produção (Butler et al., 1981) e vacas Gir

manejadas em regime de pastejo (Moore e Rocha, 1993) encontram-se subnutridas, pois a inadequada ingestão de alimentos não atende a elevada exigência nutricional, resultando em BEN (Butler e Smith, 1989).

A restrição alimentar e o BEN estão relacionados com a redução da frequência e da liberação dos pulsos de LH (Butler e Smith, 1989), redução do desenvolvimento folicular (Lucy et al., 1991) e redução do diâmetro máximo atingido pelo folículo (Murphy et al., 1991). Desta forma, a utilização de ferramentas para otimizar o crescimento e a indução da ovulação do folículo dominante, como a associação de eCG ao protocolo hormonal, juntamente com estratégias de manejo que minimizam a perda de ECC, o fornecimento de pastagens de boa qualidade e o controle da amamentação, são fundamentais para o restabelecimento precoce da atividade ovariana luteal cíclica.

Os diâmetros foliculares na retirada do implante (D8) e na IA não diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos, sendo obtidas médias de $9,5 \pm 1,8$ mm e $11,2 \pm 2,2$ mm, respectivamente (Tabela 14). Como no presente estudo, Sá Filho et al. (2009), não observaram influência da aplicação de eCG sobre o diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da IATF (sem eCG = $10,2 \pm 0,1$ mm; com eCG = $10,1 \pm 0,1$ mm; $P>0,1$).

A associação de eCG ao protocolo hormonal de sincronização da ovulação em novilhas Zebu de corte (Baruselli et al., 2004c) também não ($P>0,05$) afetou o diâmetro do folículo ovulatório ($10,9 \pm 0,3$ vs $11,2 \pm 0,3$ mm). Porém, o uso de eCG nos protocolos de ovulação aplicados em vacas (Sá Filho et al., 2010a) e novilhas (Sá Filho et al., 2010b) em anestro no início dos tratamentos, resultou em folículo dominante de maior diâmetro no momento da inseminação artificial. Estas variações podem ser devidas às diferenças nas condições metabólica e ovariana.

Tabela 14. Diâmetro (mm) do folículo dominante (FD) no dia da colocação do implante intravaginal (D0), na retirada do implante (D8) e no momento da inseminação artificial (IA) de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não (T1 e T3) de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3 (média \pm desvio padrão)

Tratamentos	n	Diâmetro folicular inicial (D0 - mm)	Diâmetro folicular final (D8 - mm)	Diâmetro folicular na IA (mm)
T1 - FD < 11mm s/ eCG	37	9,7 \pm 1,1 ^b	9,2 \pm 1,8	10,5 \pm 2,3
T2 - FD < 11mm c/ eCG	37	9,7 \pm 1,2 ^b	9,3 \pm 1,8	11,4 \pm 2,1
T3 - FD \geq 11mm s/ eCG	37	13,0 \pm 1,2 ^a	10,0 \pm 1,5	11,1 \pm 2,1
Total	111	10,8 \pm 1,9	9,5 \pm 1,8	11,2 \pm 2,2
CV (%)		10,9	17,9	19,6

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Student Newman Keuls.

Amaral (2009), que também tratou vacas Gir em anestro pós-parto ($66,1 \pm 24,5$ dias) com protocolo de progesterona e benzoato de estradiol, obteve resultados diferentes aos encontrados no presente estudo. Apesar do diâmetro folicular ao final do tratamento hormonal ser semelhante entre os dois estudos, este autor verificou que animais com folículo dominante de maior diâmetro ($T2 = 7,9 \pm 1,7$ vs $T4 = 10,8 \pm 0,9$ mm; $P < 0,05$) no início do protocolo com progesterona, também apresentaram folículos maiores ($T2 = 9,5 \pm 2,3$ vs $T4 = 11,3 \pm 1,9$ mm; $P < 0,05$) na retirada do implante. Possivelmente, esta divergência nos achados seja decorrente da diferença no diâmetro dos folículos dominantes no início do tratamento hormonal, que, no presente estudo, foi aproximadamente 2 mm superior aos grupos do estudo citado. Também, diferente do trabalho de Amaral (2009), os animais utilizados no presente estudo apresentavam condição corporal semelhante entre os tratamentos e, aproximadamente, 60 dias a mais de lactação no início da terapia hormonal.

Num estudo sobre variáveis associadas à resposta ovariana e fertilidade, envolvendo 2388 vacas de corte paridas (1869 Nelore e 519 F1 Nelore x Angus) submetidas a tratamentos hormonais à base de progesterona, benzoato de estradiol e 300UI de eCG em programas de IATF, a

manifestação de estro e o diâmetro folicular no momento da inseminação artificial foram relacionados com a taxa de gestação aos 30 dias após as inseminações (Sá Filho et al., 2010c). O diâmetro folicular no momento da inseminação influenciou nas taxas de manifestação de estro ($P < 0,001$), nas taxas de ovulação ($P < 0,001$) e no percentual de animais gestantes em relação àqueles que ovularam ($P < 0,001$). Desta forma, a presença de um maior folículo esteve associada com a maior fertilidade de vacas de corte submetidas a protocolo hormonal no pós-parto (30 a 60 dias), sendo que um folículo com, pelo menos, 11,1 mm de diâmetro no momento da inseminação artificial parece ser necessário para se obter maiores taxas de gestação por inseminação artificial, tamanho alcançado pela maioria dos animais nos grupos T2 e T3 do presente estudo.

No pós-parto recente de vacas Friesian mantidas a pasto, nenhum folículo com diâmetro menor que 14 mm foi capaz de ovular, sendo que a média do diâmetro folicular na ovulação foi de $17,0 \pm 0,6$ mm (McDougall et al., 1995). Estes resultados reforçam os achados de Gimenes et al. (2008), que observaram que o diâmetro do folículo ovulatório de novilhas da raça Nelore é, em média, $11,9 \pm 0,4$ mm e que a capacidade ovulatória de novilhas da raça Gir é maior quando estas apresentam

folículos dominantes de diâmetro superior a 10 mm. Da mesma forma, Diskin et al. (2003), usando a regressão logística, demonstraram que a probabilidade do folículo dominante de novilhas de corte ovular, é inferior a 20% quando são menores que 9 mm de diâmetro.

Sá Filho et al. (2010b) demonstraram que a administração de eCG aumentou ($P < 0,05$) a probabilidade de ovulação ao final do protocolo hormonal, apenas quando folículos de pequeno ou médio tamanho (4 a 8 mm de diâmetro) foram observados no momento da remoção do implante de Norgestomet. Isto reforça a vantagem da utilização estratégica de eCG nos animais em anestro, com folículos de menor potencial ovulatório.

Meneghetti et al. (2009), trabalhando com vacas Nelore no pós-parto (45 a 80 dias), demonstraram que o ECC no início do protocolo de IATF não afetou a taxa de ovulação ou gestação, mas influenciou no diâmetro do folículo ovulatório (ECC 3,0 = $11,80 \pm 0,14$ mm; ECC 3,5 = $12,25 \pm 0,13$ mm; ECC 4,0 = $12,41 \pm 0,12$ mm; $P < 0,05$) que, por sua vez, influenciou positivamente ($P < 0,01$) na taxa de ovulação e gestação. Os autores demonstraram que os protocolos hormonais a base de progesterona e benzoato de estradiol são eficientes em induzir taxas satisfatórias de ovulação (90%) e gestação (40 a 55%) em vacas da raça Nelore em anestro e amamentando. Contudo, em outro estudo também com vacas Nelore (Sá Filho et al., 2009), o ECC não influenciou o diâmetro do folículo dominante na IATF, nem na taxa de ovulação ($P > 0,1$), mas afetou ($P < 0,05$) o percentual de gestação (ECC 2,5 = 42,5%; ECC 3,0 = 49,6%; ECC 3,5 = 53,2%). Desta forma, a condição corporal, retratada pelo ECC, é um dos fatores que podem predizer o valor da taxa de gestação após protocolo de IATF em vacas no pós-parto.

Um estudo com 6396 vacas Holandesas lactantes de alta produção avaliou os fatores associados com o retorno da atividade ovariana luteal cíclica e a sobrevivência embrionária. Foi demonstrado de que 75,9% dos animais ovularam até 65 dias pós-parto, e que mudanças na condição energética, demonstradas pela mobilização de reserva corporal, foram associadas com o período de anestro pós-parto (Santos et al., 2009). Os percentuais de vacas apresentando corpo lúteo aos 65 dias pós-parto de acordo com a perda de ECC (escala de 1 a 5) após o parto, considerando a perda de uma ou mais unidade no ECC, menos que uma, e nenhuma perda, foram 58,7%, 74,6%, e 80,9%, respectivamente. Também foi observada associação entre o ECC aos 70 dias pós-parto e o percentual de animais que tinham retornado à ciclicidade ovariana, sendo que, 53% dos animais em anestro apresentavam $ECC \leq 2,75$. Da mesma forma, o ECC ao parto e a sua mudança até a IA foi associada ($P < 0,0001$) à taxa de concepção (proporção de vacas gestantes após serem inseminadas) aos 30 e 58 dias após a IA. Dos animais que mantiveram o ECC, 41,6% conceberam à primeira IA, contudo, naqueles que perderam uma ou mais unidade de ECC, a taxa de concepção aos 30 dias da IA foi de 22,3%. Os autores concluíram que para minimizar o período de anestro pós-parto, deve-se otimizar o ECC ao parto e no momento da IA, além de buscar minimizar a perda de ECC no início da lactação.

4.3.2 Taxas de detecção de estro, de crescimento folicular e intervalo da retirada do implante de progesterona à manifestação do estro – propriedade 3

As taxas de detecção de estros, de crescimento folicular e o intervalo da retirada do implante de progesterona à manifestação do estro estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Taxas de manifestação de estro (%), de crescimento folicular (mm/dia) e intervalo (horas) da retirada do implante de progesterona ao estro (INTERV) de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto, submetidas ao tratamento hormonal a base de progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3

Tratamentos	n	Estro		Taxa de crescimento folicular (mm/dia)	INTERV (horas)
		n	%		
Folículo < 11 mm sem eCG	37	30	81,1%	0,5 ± 0,5 ^b	42,1 ± 11,2
Folículo < 11 mm com eCG	37	30	81,1%	1,0 ± 0,5 ^a	42,3 ± 12,4
Folículo ≥ 11 mm sem eCG	37	35	94,6%	0,7 ± 0,5 ^b	43,4 ± 11,6
Total	111	95	85,6%	0,7 ± 0,5	42,6 ± 11,7
CV (%)				67,6	27,6

^{a,b}Taxas de crescimento folicular, seguidas de letras distintas na mesma coluna, diferem ($P < 0,05$) entre si, pelo teste Student Newman Keuls

Não foram encontradas diferenças entre os percentuais de animais detectados em estros nos diferentes tratamentos, sendo verificada média geral de 85,6% (95/111). Este resultado é considerado satisfatório uma vez que um dos grandes entraves para os sistemas que utilizam inseminação artificial em vacas leiteiras é a elevada taxa de perda de estros, que pode variar de 30 a 70% (Diskin e Sreenan, 2000). O resultado encontrado no presente estudo foi superior aos de Silva (2009), que realizou experimento em cinco diferentes propriedades e encontrou variação de 31,9% a 82,3% de detecção de estros em vacas zebuínas em anestro, após indução do estro usando protocolo com progesterona e benzoato de estradiol, não associado ao eCG. Porém, foi inferior a 100% (75/75), obtido por Morgana (2006) em vacas zebuínas lactantes pós-parto, e por Amaral (2009) em vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, ambos utilizando tratamento hormonal à base de implante intravaginal de progesterona e benzoato de estradiol.

A elevada concentração de estrógeno proveniente do folículo dominante e da aplicação de cipionato de estradiol, bem como a redução da concentração plasmática de progesterona logo após a retirada do implante, permite que a maioria dos animais

manifeste o comportamento de estro dentro de 42 horas (Amaral, 2009). Este autor, diferente do presente estudo, descreveu menor intervalo ($36,7 \pm 7,9$ horas vs $41,6 \pm 5,1$ horas; $P < 0,05$) para detecção do estro nas vacas que possuíam folículo de maior diâmetro ($10,8 \pm 0,9$ mm vs $7,9 \pm 1,7$ mm; $P < 0,05$) no início do protocolo hormonal. Entretanto, não foi encontrada diferença entre os tratamentos do presente experimento, quanto ao diâmetro folicular no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona. Amaral (2009) correlacionou o menor intervalo para a detecção de estro com o maior diâmetro folicular no início e ao final do tratamento hormonal ($9,5 \pm 2,3$ mm e $11,3 \pm 1,9$ mm, respectivamente; $P < 0,05$), fato não observado no presente estudo.

No presente estudo, os intervalos da retirada do implante de progesterona ao estro não diferiram entre os tratamentos, verificando-se média de $42,6 \pm 11,7$ horas, semelhantes aos descritos por Amaral (2009), que foram de $36,7 \pm 7,9$ e $41,6 \pm 5,1$ horas, e Silva (2009), que encontrou valores de $13,7 \pm 4,3$ horas a $54,5 \pm 22,5$ horas. Variações entre propriedades podem ser influenciadas pelo ECC e pelo diâmetro do folículo dominante ao final do protocolo hormonal. Apesar dos diâmetros do folículo dominante, na retirada do implante de progesterona e no momento

da IA, não terem diferido entre os grupos experimentais (Tabela 14), observou-se maior ($P>0,05$) taxa de crescimento folicular ($1,0 \pm 0,5$ mm/dia) nos animais que receberam eCG (T2), quando comparados aos demais tratamentos (T1 = $0,5 \pm 0,5$ e T3 = $0,7 \pm 0,5$ mm/dia). Independente da classe do diâmetro folicular (menor ou maior que 10 mm), os animais que não tiveram associação da eCG ao tratamento hormonal apresentaram taxas de crescimento folicular dominante semelhantes. Os animais que receberam eCG apresentaram taxas de crescimento folicular similares aos de vacas Nelore ciclando, 0,9 mm/dia (Figueiredo et al., 1997) e Gir, em anestro ou ciclando regularmente (1,1 a 1,4 mm/dia, Viana et al., 1999a; Borges, 2001).

Taxas de crescimento folicular semelhantes às do presente estudo com o uso de eCG ($1,0 \pm 0,5$ mm/dia) também foram encontradas por diversos autores: Maraña et al. (2006) em vacas de corte mestiças Zebu utilizando implante intravaginal de progesterona (sem eCG = $0,6 \pm 0,1$ mm/dia vs com eCG = $1,1 \pm 0,1$ mm/dia); Machado et al. (2010) em vacas Girolando lactantes ($1,0 \pm 0,1$ mm/dia); Sá Filho et al. (2010a) em vacas Nelore em anestro utilizando implante auricular de Norgestomet (sem eCG = $0,6 \pm 0,2$ mm/dia vs com eCG = $1,5 \pm 0,1$ mm/dia; ($P<0,05$); e Sá Filho et al. (2010b) em novilhas acíclicas (sem eCG = $0,5 \pm 0,1$ mm/dia vs com eCG = $0,9 \pm 0,2$ mm/dia).

A associação de eCG ao protocolo hormonal com progesterona e benzoato de estradiol em vacas Nelore acíclicas (Barreiros et al., 2008) também aumentou a taxa de crescimento folicular (sem eCG = $0,8 \pm 0,2$ mm/dia vs com eCG = $1,5 \pm 0,6$ mm/dia; $P=0,01$) e o diâmetro máximo dos folículos dominantes ($8,5 \pm 0,2$ mm vs $10,2 \pm 1,1$ mm; $P<0,05$). Da mesma forma, outro estudo com 456 vacas multíparas da raça Nelore lactantes e em anestro, sincronizadas entre 30 e 60 dias pós-parto (Sales et al., 2011), demonstrou que o crescimento folicular e o

diâmetro do folículo dominante no momento da IA foram superiores nos animais tratados com 300 UI de eCG ($1,4 \pm 0,1$ mm/dia e $13,9 \pm 0,2$ mm, respectivamente), quando comparados aos animais que receberam 10 mg de FSH ($0,9 \pm 0,1$ mm/dia e $12,8 \pm 0,3$ mm), e com os animais do grupo controle ($0,9 \pm 0,1$ mm/dia; $12,9 \pm 0,3$ mm), respectivamente.

O incremento final no crescimento folicular foi possibilitado pelo desbloqueio do eixo hipotalâmico-hipofisário, ocasionado pela retirada do efeito supressivo da elevada concentração de progesterona presente no implante e pela aplicação da eCG no grupo experimental T2. A eCG é um hormônio glicoprotéico com meia vida plasmática longa (até 3 dias) devido ao elevado conteúdo de ácido siálico (Murphy e Martinuk, 1991). A eCG possui função e estrutura primária semelhante ao LH em equinos, já em bovinos, exerce atividade de LH e de FSH, se ligando aos seus receptores nas células foliculares (Stewart e Allen, 1981). Desta forma, a associação da eCG ao protocolo de sincronização da ovulação de vacas em anestro pós-parto no momento da retirada do implante intravaginal de progesterona, proporciona suporte adicional de gonadotropinas, refletindo em maior taxa de crescimento folicular (Sá Filho et al., 2010a), justificando os resultados encontrados.

Alguns estudos demonstraram evidências de que a eCG induz efeito similar ao LH na esteroidogênese folicular. Um dos seus prováveis mecanismos de ação consiste no aumento da quantidade de proteína reguladora da esteroidogênese aguda (StAR), a qual é responsável pelo transporte do colesterol da membrana externa para a membrana interna da mitocôndria nas células da teca (Soumano e Price, 1997; Fátima et al., 2012). A eCG também estimula a produção de estradiol ao aumentar a quantidade de RNAm para a enzima citocromo P450 17 α -hidroxilase

(P450_{17α}), responsável pela conversão do colesterol em pregnenolona (Soumano et al., 1996). Num estudo sobre a expressão das enzimas envolvidas no processo de esteroidogênese folicular em bovinos, as ações do FSH e da eCG foram comparadas, verificando-se que a eCG promove maior aumento da concentração de RNAm para a enzima P450_{17α} em folículos pequenos (entre 3 e 5 mm de diâmetro), e grandes (maiores que 9 mm) (Soumano et al., 1996). Esta resposta foi relacionada com a ação do LH da eCG, pois a enzima P450_{17α} é expressa exclusivamente nas células da teca, que possuem receptores de LH e não de FSH.

Acredita-se que a ação da eCG seja específica nas células da teca, já que não se verifica efeito do tratamento na concentração de RNAm para a enzima 3β-hidroxiesteróide desidrogenase (3β-HSD), que é expressa principalmente nas células da granulosa. O mesmo ocorre com a enzima P450 Aromatase, a qual é encontrada exclusivamente nestas células foliculares. O aumento da enzima P450_{17α} proporcionado pela eCG é devido à maior síntese de

dehidroepiandrosterona, a qual é rapidamente convertida em estradiol nas células da granulosa. Segundo Soumano e Price (1997), é possível que a maior produção de estradiol em vacas estimuladas com eCG seja suficiente para induzir a formação de receptores de LH nas células da granulosa dos folículos pequenos. Portanto, a associação da eCG ao tratamento hormonal com a progesterona e o estradiol no presente estudo, pode ter estimulado a produção de estrógeno pelo folículo dominante em quantidade suficiente para induzir a liberação de LH, com frequência e amplitude necessárias para resultar em maior taxa de crescimento folicular.

4.3.3 Taxas de ovulação, área e volume dos corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir - propriedade 3

Na Tabela 16, é possível visualizar as taxas ovulatórias, as medidas luteais e as concentrações plasmáticas de progesterona 10 dias após a indução da ovulação de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto.

Tabela 16. Taxas de ovulação (%), área (cm²) e volume (cm³) dos corpos lúteos (média ± desvio padrão) e concentrações plasmáticas de progesterona (P4 - ng/mL) dez dias após a indução da ovulação de vacas da raça Gir PO em anestro pós-parto tratadas com progesterona e benzoato de estradiol, seguido (T2) ou não (T1 e T3) de aplicação de gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3

Tratamentos	n	Ovulações		Área do tecido luteal (cm ²)	Volume do tecido luteal (cm ³)	Concentração plasmática de P4 (ng/ml)
		n	%			
T1 - FD < 11 mm s/ eCG	37	17	45,9% ^y	2,1 ± 0,5 ^b	2,1 ± 0,8 ^b	2,4 ± 1,5
T2 - FD < 11 mm c/ eCG	37	29	78,4% ^x	2,7 ± 0,8 ^a	2,8 ± 1,3 ^a	3,7 ± 2,3
T3 - FD ≥ 11 mm s/ eCG	37	27	73,0% ^x	2,2 ± 0,4 ^b	2,1 ± 0,7 ^b	2,8 ± 1,4
Total	111	73	65,8%	2,3 ± 0,7	2,4 ± 1,0	3,1 ± 1,9

^{x,y}Percentual de ovulação, seguido de letras distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05) entre si, pelo teste exato de Fisher. ^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05) entre si, pelo teste Student Newman Keuls.

O maior diâmetro folicular no início do protocolo sem eCG foi relacionado com a maior taxa de ovulação (T1 vs T3; P=0,032), porém não diferiu quanto a área e o volume dos corpos lúteos. Já Silva (2009), não encontrou qualquer relação significativa

entre os diâmetros foliculares, na inserção ou na retirada do implante, com a ocorrência de estro, ovulação ou a probabilidade do animal ficar gestante. Contudo, no estudo de Amaral (2009), com vacas da raça Gir em anestro pós-parto, os animais com folículo

dominante de diâmetro igual ou superior a 10 mm no início do tratamento hormonal tiveram maior ($P < 0,05$) taxa ovulatória (88%; 22/25) que os animais com folículos menores que 10 mm (60%; 15/25). Semelhante ao observado no presente estudo, a área ($1,8 \pm 0,8$ e $2,2 \pm 0,6 \text{ cm}^2$), o volume ($1,6 \pm 0,9$ e $2,1 \pm 0,9 \text{ cm}^3$) dos corpos lúteos, e, a concentração plasmática de progesterona ($1,9 \pm 1,5$ e $3,2 \pm 1,9 \text{ ng/mL}$) não diferiram ($P > 0,05$) entre os animais com folículos dominantes de menor ou maior diâmetro, respectivamente.

A associação de eCG ao protocolo hormonal nos animais com folículos de menor diâmetro (T2) foi eficiente para aumentar o percentual de ovulação (45,9% vs 78,4%; $P = 0,008$) a ponto de equipará-lo (73,0%; $P = 0,78$) ao grupo constituído por vacas com folículo dominante de maior diâmetro (T3) no início do protocolo hormonal. A utilização de eCG também foi responsável pelo aumento ($P < 0,05$) da área e do volume luteal mensurados 10 dias após a indução da ovulação. Resultados semelhantes também foram relatados por Tríbulo et al. (2002), Reis (2004) e Ferreira et al. (2006), em novilhas de corte *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* receptoras de embriões. Já Barreiros et al. (2008), não verificaram diferenças quanto ao tamanho do corpo lúteo e concentração plasmática de progesterona em vacas da raça Nelore com $76,7 \pm 16,7$ dias pós-parto, tratadas ou não com eCG ao final do protocolo hormonal à base de progesterona e estradiol.

A divergência dos resultados entre os estudos com eCG pode estar relacionada com as diferenças de manejo entre as propriedades, principalmente o manejo nutricional, fator que determina a quantidade e a intensidade do anestro no rebanho. A melhora na taxa de ovulação das vacas tratadas com eCG no presente estudo pode ser devida à capacidade desse hormônio estimular o crescimento folicular e promover a ovulação. Num estudo realizado com

porcas, sugeriu-se que a capacidade da eCG estimular o crescimento folicular se deve à diminuição da apoptose e ao maior desenvolvimento das células da granulosa (Liu et al., 2003).

A associação de eCG ao protocolo de indução da ovulação em búfalas em anestro estacional promoveu aumento do diâmetro do folículo dominante, da taxa de ovulação, da taxa de crescimento do corpo lúteo e da sua funcionalidade no início da fase luteal subsequente à IATF (Carvalho et al., 2013). A maior produção de progesterona em vacas tratadas com eCG pode ser resultante do aumento do diâmetro do corpo lúteo, da regulação do metabolismo de lipídeos, de alterações nas estruturas celulares envolvidas com a síntese de progesterona luteal, ou a combinação destes fatores (Fátima et al., 2012).

Em estudo com vacas mestiças de corte não lactantes, verificou-se que a utilização de 400UI de eCG no momento da retirada do implante de progesterona causou mudanças morfológicas e funcionais nas células luteínicas, o que pode explicar a melhora na fertilidade após o uso de gonadotropinas exógenas (Rigoglio et al., 2012). Os autores revelaram que a associação de eCG ao protocolo hormonal aumentou a densidade e o número de células luteais grandes, além de induzir significativo aumento na densidade de mitocôndrias do corpo lúteo. Essas alterações podem ser responsáveis pela maior produção de progesterona, pois são, respectivamente, as principais células e organelas relacionadas com a biossíntese de progesterona.

Apesar dos animais tratados com eCG (T2) tenderem ($P = 0,07$) a apresentar maior concentração plasmática de progesterona ($3,7 \pm 2,3 \text{ ng/mL}$) em relação aos animais do tratamento T1 ($2,4 \pm 1,5 \text{ ng/mL}$) e T3 ($2,8 \pm 1,4 \text{ ng/mL}$), os corpos lúteos resultantes da ovulação induzida mostraram funcionalidade normal e semelhante entre os tratamentos. A

concentração plasmática de progesterona, no dia da inserção (dia 0) do implante intravaginal não diferiu ($P > 0,05$) entre os tratamentos, sendo obtida média de $0,2 \pm 0,1$ ng/mL. Este valor comprova a condição de anestro ao início do experimento, pois animais apresentando corpo lúteo funcional, necessariamente, devem ter concentração de progesterona superior a 1 ng/mL.

Verificou-se alta correlação ($r = 0,97$) entre a área e o volume dos corpos lúteos, e, média correlação ($r = 0,53$) entre a área dos corpos lúteos e a concentração plasmática de progesterona 10 dias após a indução da ovulação, sendo que ambas foram significativas ($P = 0,0001$).

Semelhante ao encontrado, Baruselli et al. (2004c) trabalhando com novilhas Zebu de corte submetidas a tratamento hormonal à base de progesterona e benzoato de estradiol, observaram que a aplicação de 400 UI de eCG na retirada do implante aumentou ($P < 0,05$) a taxa de ovulação [76% (16/21) vs 50% (10/20)] e a concentração plasmática de progesterona ($4,3 \pm 0,6$ ng/mL vs $2,2 \pm 0,2$ ng/mL), porém não influenciou na área do corpo lúteo ($2,4 \pm 0,2$ cm² vs $2,0 \pm 0,1$ cm²).

Sá Filho et al. (2010c) reportaram 84,9% (690/813) de ovulação em vacas de corte submetidas a tratamentos hormonais à base de progesterona/progestágeno, estrógeno e 300 UI de eCG no pós-parto (30 a 60 dias). Os autores encontraram relação entre o diâmetro do folículo dominante no dia da IA e a taxa de ovulação, sendo que os animais com folículos de 7,5 a 11 mm e 11,1 a 14,4 mm de diâmetro apresentaram taxas de ovulação de 73,9% (161/218) e 95,8% (407/425), respectivamente ($P < 0,001$).

A associação de eCG ao protocolo hormonal com progesterona e benzoato de estradiol em vacas da raça Holandês de alta produção não interferiu no diâmetro do folículo ovulatório, mas aumentou a concentração

plasmática de progesterona após a ovulação (Souza, 2008). Outro achado interessante neste mesmo estudo foi o efeito da condição corporal sobre o volume do corpo lúteo e a concentração circulante de progesterona. Animais com baixo ECC ($< 2,75$) apresentaram corpo lúteo com menor volume e menor concentração de progesterona nos dias 12 e 14 do ciclo estral, quando comparados aos animais de melhor ECC ($\geq 2,75$). Além disso, a administração de 400 UI de eCG no momento da retirada do implante intravaginal de progesterona e da aplicação de 1,0 mg de cipionato de estradiol, aumentou o percentual de concepção dos animais de menor ECC, de modo que não houve diferença quando foram comparados com os animais de melhor condição corporal. Sendo assim, o autor sugeriu que o uso de eCG foi eficiente em aumentar o percentual de concepção em vacas leiteiras de alta produção, provavelmente por aumentar a concentração plasmática de progesterona após a ovulação sincronizada em animais apresentando condição corporal comprometida.

Sales et al. (2011) utilizaram eCG em protocolo hormonal à base de progesterona e benzoato de estradiol, visando melhorar a taxa de gestação após a realização de IATF em vacas Nelore em anestro pós-parto. Houve aumento ($P = 0,008$) das taxas de ovulação (95,5% vs 58,1%) e concepção (66,7% vs 34,7%) nos animais que apresentavam menor ECC ($< 2,75$) e/ou folículos de menor diâmetro no momento da retirada do implante de progesterona. Ao analisarem apenas os animais que ovularam, a taxa de gestação também foi superior ($P = 0,04$) para os animais tratados com eCG.

Embora um número significativo de animais tenha sido detectado em estro, houve variação no percentual de animais que manifestaram estro seguido de ovulação entre os grupos experimentais (Tabela 17).

Tabela 17. Vacas da raça Gir PO que foram detectadas em estro, seguido ou não de ovulação, após o tratamento hormonal a base de progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3 (número e %)

Tratamentos		Com ovulação		Sem ovulação		Total de animais	
		n	%	n	%	n	%
T1 - FD < 11 mm s/ eCG	Com estro	16	43,2 ^B	14	37,9 ^x	30	81,1
	Sem estro	1	2,7	6	16,2	7	18,9
	Total	17	45,9 ^b	20	54,1	37	100,0
T2 - FD < 11 mm c/ eCG	Com estro	27	73,0 ^A	3	8,1 ^y	30	81,1
	Sem estro	2	5,4	5	13,5	7	18,9
	Total	29	78,4 ^a	8	21,6	37	100,0
T3 - FD ≥ 11 mm s/ eCG	Com estro	26	70,3 ^{AB}	9	24,3 ^{xy}	35	94,6
	Sem estro	1	2,7	1	2,7	2	5,4
	Total	27	73,0 ^a	10	27,0	37	100,0
Total geral		73	65,8	38	34,2	111	100,0

Percentual de ovulação, seguido de letras minúsculas^{a,b} ou maiúsculas^{A,B} distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05) entre si, pelo teste exato de Fisher. Percentual de estro sem ovulação, seguido de letras minúsculas^{x,y} distintas na mesma coluna, diferem (P<0,05) entre si, pelo teste exato de Fisher.

Observou-se que dentre os animais detectados em estro, aqueles que receberam eCG (T2) tiveram maior (P=0,003) taxa ovulatória [90,0% (27/30)] que os animais do T1 [53,3% (16/30)] e T3 [74,3% (26/35)]. Provavelmente, isto se deve à ação sinérgica da eCG com as gonadotropinas hipofisárias, pois este hormônio mimetiza e potencializa a ação das mesmas, aumentando assim a probabilidade de ovulação das vacas em anestro pós-parto submetidas ao protocolo hormonal à base de progesterona e benzoato de estradiol. Resultado semelhante foi obtido por Carvalho et al. (2007) em vacas mestiças F1 Holandês x Zebu em anestro pós-parto, os quais relataram que 88,5% (23/26) dos animais detectados em estro ovularam após indução hormonal utilizando o mesmo tratamento do grupo T1, e que 33,3% (3/9) das vacas que não ovularam foram observadas em estro.

Da mesma forma, verifica-se que os grupos T2 e T1 foram os que apresentaram o menor (8,1%) e o maior (37,9%) percentual (P=0,004) de animais manifestando estro comportamental, não acompanhado de

ovulação. O baixo percentual (2,7 a 5,4%) de animais não detectados em estro que ovularam demonstra a importância do bom manejo de observação de estro em programas de IA, ponto chave para obter sucesso nos resultados.

4.3.4 Taxas de gestação aos 30 dias e de retorno à atividade ovariana luteal cíclica de vacas da raça Gir PO que não se tornaram gestantes, após tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 3

Houve diferença (P<0,05) nas taxas de gestação entre os grupos experimentais (Tabela 18). Ao analisar apenas os animais que apresentavam folículo dominante com diâmetro inferior a 11 mm no início do tratamento hormonal, observou-se que a utilização da eCG (T2) foi eficiente em aumentar (P=0,02) o percentual de fêmeas gestantes (18,9% vs 46,0%) aos 30 dias após as inseminações artificiais, equiparando ao resultado obtido com os animais que apresentavam folículo dominante com diâmetro igual ou superior a 11 mm (43,2%,

16/37). Apesar do número de vacas gestantes em relação ao total de animais ovulados não ter diferido, semelhante ao reportado para novilhas Nelore em anestro (Sá Filho et al., 2010b), verifica-se que em relação aos animais detectados em estro, as fêmeas do tratamento T1 apresentaram menor ($P=0,03$) percentual de gestação (20,0%), quando comparadas com as dos tratamentos T2 (53,3%) e T3 (42,9%). A

diferença é devida às maiores taxas de ovulação e de estros seguidos de ovulação, obtidas para os animais dos grupos T2 e T3 (Tabela 18). Estes resultados sugerem que o efeito da associação da eCG ao protocolo de indução da ovulação em vacas da raça Gir em anestro pós-parto, pode ser positivo em animais com folículo dominante de diâmetro inferior a 11 mm e $ECC < 3$, independente do período de lactação.

Tabela 18. Taxa de gestação aos 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir PO, em relação ao total de animais que foram sincronizados, aos detectados em estro e aos que ovularam - propriedade 3 (número e %)

Tratamentos	n	Vacas gestantes em relação ao total de animais		Vacas gestantes em relação às detectadas em estro		Vacas gestantes em relação às que ovularam	
		n	%	n	%	N	%
T1 - FD < 11 mm s/ eCG	37	7	18,9% ^b	6/30	20,0% ^b	7/17	41,2%
T2 - FD < 11 mm c/ eCG	37	17	46,0% ^a	16/30	53,3% ^a	17/29	58,6%
T3 - FD ≥ 11 mm s/ eCG	37	16	43,2% ^a	15/35	42,9% ^{ab}	16/27	59,3%
Total	111	40	36,0%	38/95	40% ^a	40/73	54,8%

^{a,b}Percentuais de gestação, seguidos de letras distintas na mesma coluna, diferem ($P<0,05$) entre si, pelo teste exato de Fisher.

O impacto positivo da eCG sobre a taxa de gestação pode estar relacionado com a sua capacidade de induzir mudanças moleculares, celulares e teciduais, as quais estão relacionados com o aumento da capacidade funcional de produção de progesterona (Fátima et al., 2012). Estas mudanças abrangem a maior expressão de proteínas e enzimas envolvidas na esteroidogênese folicular e na biossíntese de progesterona luteal (Soumano et al., 1996; Soumano e Price, 1997), as alterações na densidade de mitocôndrias e quantidade de células luteais grandes (Rigoglio et al., 2012), dentre outras, possibilitando maior crescimento do folículo dominante, maior taxa de ovulação e melhor desenvolvimento do corpo lúteo. A ovulação de um folículo com maior diâmetro é relacionada com a formação de um corpo lúteo maior, maior concentração de progesterona e maior taxa de gestação (Sá Filho et al., 2010a;b;c).

Em relação aos animais que não manifestaram estro e foram inseminados em

tempo pré-determinado de 60 horas ($n = 16$) após a retirada do implante de progesterona, 75% ($n = 12$;) não ovularam, porém, 75% (3/4) dos que ovularam tornaram-se gestantes, ou seja, 19% (3/16) dos animais que foram inseminados sem serem detectados em estro foram detectados gestantes 30 dias após a IA. Apesar do número de animais ser pequeno, deve-se questionar a viabilidade de inseminar vacas que não foram detectadas em estro após o tratamento hormonal para indução da ovulação em vacas da raça Gir em anestro.

A taxa de gestação do grupo T1 foi semelhante à resultados obtida por Ruas et al. (2005), em estudo com primíparas F1 Holandês x Zebu sem tratamento hormonal, com menos de 90 dias pós-parto. Estes autores encontraram taxas de gestação de 18,7% (3/16) e 25% (4/16), para os animais classificados como leves (peso vivo entre 374 e 451 kg, ECC médio de $3,5 \pm 0,4$) ou pesados (peso vivo entre 452 e 545 kg, ECC de $3,7 \pm 0,4$), respectivamente.

Os resultados do presente experimento estão de acordo com os relatos de Baruselli et al. (2003); Cutaia et al. (2003); Baruselli et al. (2004a); Rodrigues et al. (2004); Ayres et al. (2007); Bryan et al. (2008); Souza et al. (2009) e Sá Filho et al. (2010a,b), que demonstraram incremento na taxa de gestação de vacas em anestro e com baixo

ECC, quando associaram eCG aos protocolos de sincronização da ovulação.

A Tabela 19 apresenta o número de vacas que não se tornaram gestantes e retornaram ao anestro ou à atividade ovariana cíclica, num período de 30 dias após as inseminações artificiais.

Tabela 19. Animais não gestantes que apresentavam corpo lúteo (CL) ou que retornaram ao anestro após o tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3

Tratamento	n	Não ovuladas		Ovuladas não gestantes		Total
		Apresentavam CL	Mantiveram-se em anestro	Apresentavam CL	Retornaram ao anestro	
T1 - FD < 11 mm s/ eCG	37	19	1	3	7	30
T2 - FD < 11 mm c/ eCG	37	8	0	6	6	20
T3 - FD ≥ 11 mm s/ eCG	37	10	0	6	5	21

Com exceção de um animal do grupo T1, todas as vacas que não haviam ovulado até 10 dias após o final do tratamento hormonal, apresentavam corpo lúteo no momento do diagnóstico de gestação. Do total de animais ovulados e não gestantes nos grupos T1 (n=10), T2 (n=12) e T3 (n=11), os percentuais de animais que mantiveram a ciclicidade foram 30,0% (3/10), 50,0% (6/12) e 54,5% (6/11), e os que retornaram ao anestro foram 70,0% (7/10), 50,0% (6/12) e 45,5% (5/11), respectivamente. Sendo assim, as taxas de anestro foram de 21,6% (8/37), 16,2% (6/37) e 13,5% (5/37), para os tratamentos T1, T2 e T3, respectivamente.

4.3.5 Área e volume dos corpos lúteos de vacas da raça Gir PO gestantes, após tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG - propriedade 3

Dentre os animais gestantes, os que receberam eCG no protocolo hormonal apresentaram maiores ($P < 0,05$) corpos lúteos quando comparados aos demais tratamentos. A área e o volume dos corpos lúteos não diferiram ao longo das avaliações realizadas após as inseminações artificiais sendo, verificando-se médias de $2,5 \pm 0,5 \text{ cm}^2$ e $2,6 \pm 0,8 \text{ cm}^3$, respectivamente (Tabela 20).

Tabela 20. Área (cm^2) e volume (cm^3) dos tecidos luteais 10, 20 e 30 dias após as inseminações artificiais de vacas da raça Gir PO que se tornaram gestantes após serem submetidas a tratamento hormonal com progesterona e benzoato de estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à gonadotropina coriônica equina (eCG) - propriedade 3 (média \pm desvio padrão)

Tratamento	Propriedade 3 N		Dias após a inseminação artificial			Média
			10	20	30	
T1 - FD < 11 mm s/ eCG	7	Área (cm^2)	$2,3 \pm 0,4^b$	$2,2 \pm 0,4^b$	$2,3 \pm 0,4^b$	$2,3 \pm 0,4^b$
		Volume (cm^3)	$2,3 \pm 0,6^b$	$2,2 \pm 0,5^b$	$2,2 \pm 0,5^b$	$2,3 \pm 0,5^b$
T2 - FD < 11 mm c/ eCG	17	Área (cm^2)	$2,7 \pm 0,8^a$	$2,6 \pm 0,5^a$	$2,6 \pm 0,5^a$	$2,6 \pm 0,6^a$
		Volume (cm^3)	$3,0 \pm 1,3^a$	$2,6 \pm 0,6^a$	$2,7 \pm 0,8^a$	$2,8 \pm 1,0^a$
T3 - FD ≥ 11 mm s/ eCG	16	Área (cm^2)	$2,3 \pm 0,4^b$	$2,5 \pm 0,3^b$	$2,4 \pm 0,3^b$	$2,4 \pm 0,3^b$
		Volume (cm^3)	$2,2 \pm 0,7^b$	$2,6 \pm 0,6^b$	$2,5 \pm 0,5^b$	$2,5 \pm 0,6^b$

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna, diferem ($P < 0,05$) entre si, pelo teste Student Newman Keuls.

O tamanho dos corpos lúteos foi semelhante ao encontrado em vacas Gir com atividade luteal cíclica regular, área máxima de 2,9 a 3,8 cm² e volume máximo de 3,3 a 5,2 cm³ (Borges, 2001), mostrando que os protocolos utilizados para indução da ovulação de vacas Gir em anestro pós-parto foram capazes de levar à formação de corpos lúteos de tamanho normal.

As médias da área e do volume dos corpos lúteos dos animais tratados com eCG permaneceram superior (P<0,05) aos demais até o momento do diagnóstico de gestação. Estes animais (T2) tenderam (P=0,07) a apresentar maior concentração plasmática de progesterona (Tabela 16) e tiveram maior (P<0,05) percentual de gestação (Tabela 18), quando comparados aos animais dos tratamentos T1 e T3, o que indica associação entre tamanho do corpo lúteo, capacidade produtiva e probabilidade da vaca se tornar gestante. Contudo, a concentração plasmática de progesterona 10 dias após a inseminação artificial não diferiu (P>0,05) entre os animais que foram diagnosticados gestantes (3,4 ± 2,1 ng/mL) ou não (2,6 ± 1,6 ng/mL).

A concentração plasmática de progesterona está relacionada com o desenvolvimento e a capacidade do embrião produzir interferon-tau (Mann et al., 1999). Quanto maior o volume do corpo lúteo, maior a concentração plasmática de progesterona e maior o percentual de gestação obtido após a IA (Baruselli et al., 2000; Vasconcelos et al., 2001).

Com base nestes estudos e nos resultados do presente experimento, acredita-se que a eCG, quando associada ao tratamento com progesterona e benzoato de estradiol em vacas da raça Gir em anestro pós-parto, sob precário manejo nutricional, pode aumentar o tamanho do corpo lúteo formado após a indução da ovulação.

5. CONCLUSÕES

- A mensuração do diâmetro folicular por meio da ultrassonografia mediante avaliação ginecológica criteriosa, antes do início do protocolo hormonal, foi importante para maximizar a resposta aos tratamentos com progesterona e benzoato de estradiol.

- A resposta ao tratamento com progesterona e benzoato de estradiol em vacas zebu em anestro pós-parto depende do diâmetro do folículo dominante no início do protocolo hormonal, do escore de condição corporal, do manejo nutricional e do manejo de amamentação.

- O efeito positivo da associação de eCG ao protocolo com progesterona e benzoato de estradiol em vacas da raça Gir em anestro pós-parto depende do diâmetro folicular e do escore de condição corporal, independente do período de lactação na qual o animal se encontra.

- Os resultados do presente experimento sugerem que mesmo em vacas Gir em anestro pós-parto com folículo dominante de diâmetro inferior a 11 mm ao início do tratamento com progesterona e benzoato de estradiol, a utilização da eCG nos protocolos hormonais pode ser dispensável quando os animais encontram-se com bom escore de condição corporal (igual ou superior a 3, na escala de 1 a 5) e sob manejo de amamentação controlado (permanecendo com suas crias somente durante duas amamentações diárias).

- O uso de protocolos hormonais a base de progesterona e benzoato de estradiol, associado ou não à eCG em vacas zebuínas em anestro pós-parto demonstrou ser uma prática viável quando utilizado com critérios, considerando as taxas de gestação obtidas nas diversas propriedades no presente estudo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYGUNAWARDENA, H.A.; DEMATAWEWA, C.M.B. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.373-387, 2004.

ACOSTA, B.; TARNAVSKY, T.E.; PLATT, T.E. et al. Nursing enhances the negative effect of estrogen on LH release in the cow. *Journal of Animal Science*, v.57, p.1530-1536, 1983.

ALLEN, W.R.; MOOR, R.M. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. *Journal of Reproduction Fertility*, v.29, p.313-316, 1972.

ALVAREZ, P.; SPICER, L.J.; CHASE JR., C.C. et al. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of Animal Science*, v.78, p.1291-1302, 2000.

AMARAL, T.F. *Influência do diâmetro do folículo dominante sobre as taxas de ovulação e gestação de vacas da raça Gir em anestro pós-parto e submetidas a protocolo hormonal com progesterona associada a estradiol*. 2009. 60f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

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

ARMSTRONG, J.D.; JOHNSON, B.H. Agonists of endogenous opioid peptides suppress LH, and stimulate cortisol and

growth hormone during the follicular phase in heifers. *Journal of Endocrinology*, v.121, p.11-17, 1989.

Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA). Disponível em < <http://www.asbia.org.br/> > Acesso em abril de 2012.

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 cows. *Livestock Science*, v.123, p.175-179, 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, p.1113, 2007.

AYRES, H.; PENTEADO, L.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S. et al. Taxa de concepção de vacas Nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, p.410, 2006.

BALIEIRO, E.S.; PEREIRA, J.C.C.; VERNEQUE, R.S. et al. Estimativas de parâmetros genéticos e de tendência fenotípica, genética e de ambiente de algumas características reprodutivas na raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, n.4, p.371-376, 1999.

BARREIROS, T.R.R.; BLASCHI, W.; BARUSELLI, P.S. et al. Crescimento folicular, tamanho do corpo lúteo e concentração de progesterona em vacas Nelore acíclicas submetidas à sincronização da ovulação acompanhadas ou não de desmame temporário ou aplicação de eCG. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.36, supl.2, p.592, 2008.

- BARUSELLI, P.S.; ABE, E.K.; SALA, R.V. et al. A ocorrência do estro após a sincronização melhora a eficiência do uso do sêmen sexado na IATF (resumo). XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE) – 18 a 20 de agosto de 2011, p.370.
- BARUSELLI, P.S.; JACOMINI, J.O.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOB em tempo fixo. In: III Simpósio internacional de reprodução animal aplicada, 2008, Londrina, *Anais...*, 2008, p.146-167.
- BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; MARQUES, M.O. et al. Effect of treatment with eCG on conception rate in nelore cows with different body condition scores submitted to fixed-time artificial insemination. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.228, 2004b.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H. et al. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices [abstract]. *Theriogenology*, v.55, p.355, 2001.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H. et al. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v.28, p.218, 2000.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.T. et al. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination [abstract]. *Theriogenology*, v.59, p.214, 2003.
- 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: *Anais...XIV International Congress on Animal Reproduction*, vol. 1, Porto Seguro, BA, p. 117, 2004c.
- 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 of Reproduction Science*, v.82-83, p.479-486, 2004a).
- BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, suppl.54, p.411-424, 1999.
- BEAM, S.W.; BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biology of Reproduction*, v.56, p.133-142, 1997.
- BISHOP, D.K.; WETTEMANN, R.P.; SPICER, L.J. Body energy reserves influence the onset of luteal activity after early weaning of beef cows. *Journal of Animal Science*, v.72, p.2703-2708, 1994.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and oestradiol 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 Reproduction Science*, v.78, p.307-326, 2003.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D. et al. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, v.57, p.53-72, 2002.

- BOLAÑOS, J.M.; FORSBERG, M; KINDAHL, H. et al. Influence of body condition and restricted suckling on postpartum reproductive performance in Zebu cows (*Bos indicus*) in the humid tropics. *Reproduction in Domestic Animals*, v.31, p.363-367, 1996.
- BORGES, A.M. *Influência de diferentes manejos e tratamentos hormonais na dinâmica ovariana durante o ciclo estral e no anestro pós-parto de vacas Gir e Nelore*. 2001. 134f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- BORGES, A.M. Inter-relações entre nutrição e reprodução em fêmeas bovinas de corte. In: V Simpósio de produção de gado de corte, 2006, Viçosa, *Anais...Viçosa: SIMCORTE*, 2006, p.555-597.
- BORGES, A.M.; ALVES, B.R.C.; RUAS, J.R.M. et al. Early induction of ovulation in postpartum anestrous F1 Holstein x Zebu crossbred dairy cows. In: International Congress on Animal Reproduction, 15, 2008, Budapeste. *Poster Abstracts... Reproduction in Domestic Animals*, v.43, n.3, p.33, 2008.
- BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Desenvolvimento luteal e concentrações plasmáticas de progesterona em vacas das raças Gir e Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.32, n.2, p.276-283, 2003.
- BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; ROCHA JÚNIOR, V.R. et al. Desenvolvimento folicular no pós-parto de vacas da raça Gir tratadas com acetato de buserelina (GnRH) ou gonadotrofina coriônica humana (hCG). *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.6, p.1396-1404, 2004.
- BORGES, J.C.; SILVA, M.R.; CANAVARI, I.C. et al. Efeito da manifestação de cio na taxa de prenhez em vacas nelore submetidas ao protocolo de IATF no pantanal Sulmatogrossense (resumo). XXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE) - 18 a 20 de agosto de 2011, p.377.
- BRANDÃO, F.Z. Aspectos produtivos e reprodutivos de vacas mestiças Holandês-Zebu submetidas a diferentes manejos: presença das crias, número de ordenhas e hormonioterapia. 2004. 203f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- BRITT, J.H. Reproductive performance as affected by nutrition and environment. In: 3rd Florida Ruminant Nutrition Symposium, 1992, *Anais...Orlando*, p.93-101, 1992.
- BRYAN, M.A.; EMSLIE, R.; HEUER, C. Comparative efficacy of an 8-day Cue-Mate/estradiol benzoate program with or without inclusion of equine chorionic gonadotropin in anestrous dairy cows [abstract]. *Reproduction, Fertility and Development*, v.20, p.85, 2008.
- BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L.; BOLAND, M.P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. *Animal of Reproduction Science*, v.45, p.13-28, 1996.
- BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E. et al. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Animal Reproduction Science*, v.66, p.161-174, 2001.
- BUTLER, W.R. Nutrition, negative energy balance and fertility in the postpartum dairy cow. *Cattle Practice*, v.13, p.13-18, 2005.
- BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, v.60-61, p.449-457, 2000.

- BUTLER, W.R.; EVERETT, R.W. e COPPOCK, C.E. The relationships between energy balance, milk production and ovulation in postpartum holstein cows. *Journal of Animal Science*, v.53, p.742-748, 1981.
- BUTLER, W.R.; SMITH, R.D. Interrelationships between energy balance on postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.7, p.767-783, 1989.
- CANFIELD, R.W.; BUTLER, W.R. Energy balance and pulsatile luteinizing hormone secretion in early postpartum dairy cows. *Domestic Animal Endocrinology*, v.7, p.323-330, 1990.
- CARVALHO, B.C. *Parâmetros reprodutivos, metabólicos e produção de leite de vacas mestiças Holandês x Zebu submetidas a dois manejos pré-parto*. 2009. 193f. Tese (Doutorado) - Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CARVALHO, B.C.; RUAS, J.R.M.; SILVA FILHO, J.M. et al. Dinâmica folicular de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu (HZ) submetidas à indução da ovulação no pós-parto. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, p.1110, 2007.
- CARVALHO, J.B.P. *Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR) em novilhas Bos indicus, Bos indicus x Bos taurus e Bos taurus*. 2004. 124f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CARVALHO, N.A.T.; SOARES, J.G.; PORTO FILHO, R.M. et al. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a timed artificial insemination protocol in buffalo during the nonbreeding season. *Theriogenology*, v.79, p.423-428, 2013.
- CASTILHO, C.; GARCIA, J.M.; RENESTO, A. et al. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*, v.98, p.189-196, 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.
- CHRISTIAN, R.E.; CASIDA, L.E. The effect of progesterone in altering the oestrus cycle of the cow. *Journal of Animal Science*, (Abstracts), v.7, p.540, 1948.
- 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. The potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effectin the sexual maturity of the immature rat. *American Journal of Physiology*, v.93, p.57-68, 1930.
- CUTAIA, L.; TRIÍBULO, R.; MORENO, D.; BÓ, G.A. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG) [abstract]. *Theriogenology*, v.59, p.216, 2003.
- DIAS, A.J.B.; MATOS, L.F.; FONTES, R.S. Hormonal control of estrus cycle of acyclic cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.216, 2004.

- DIAS, F.M.G.N. *Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pós-parto de vacas de corte zebuínas*. 1991. 100f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas, Belo Horizonte.
- DISKIN, M.G.; MACKAY, D.R.; ROCHE, J.F. et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.345-370, 2003.
- DISKIN, M.G.; MACKAY, D.R.; STAGG, K. et al. Shortening the interval to the resumption of ovarian cycles in postpartum beef cows. *Beef Production Series*, n. 25 (Project No. 4010). Teagasc – Agriculture and Food Development Authority, 2001, 19p.
- DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M. Expression and detection of oestrus in cattle. *Reproduction Nutrition Development*, v.40, p.481-491, 2000.
- EDWARDS, S. The effect of short-term calf removal on pulsatile LH secretion in the postpartum beef cows. *Theriogenology*, v.23, p.777-784, 1985.
- ERENO, R.L.; BARREIROS, T.R.R.; SENEDA, M.M. et al. Taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes tratadas com progesterona associada à remoção temporária de bezerros ou aplicação de gonadotrofina coriônica equina. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, p.1288-1294, 2007.
- FÁTIMA, L.A.; BINELLI, M.; BARUSELLI, P.S. et al. Angiogenic and steroidogenic responses of the corpus luteum after superovulatory and stimulatory treatments using eCG and FSH. *Animal Reproduction*, v.9, n.3, p.273-280, 2012.
- FERREIRA, A. M. *Efeito da amamentação e do nível nutricional na atividade ovariana de vacas mestiças leiteiras*. 1990. 134f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- FERREIRA, A.M. Nutrição e atividade ovariana em bovinos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.28, p.1077-1093, 1993.
- FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; VILLAÇA, H.A. et al. Diagnóstico da situação produtiva e reprodutiva em rebanhos leiteiros da Zona da Mata, MG. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.27, p.91-104, 1992.
- FERREIRA, A.M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F. et al. Restrição alimentar e atividade ovariana luteal cíclica pós-parto em vacas Girolanda. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.35, p.2521-2528, 2000.
- FERREIRA, R.M.; RODRIGUES, C.A.; AYRES, H. et al. Effect of synchronizing ovulation in cattle administered a norgestomet ear implant in association with eCG and estradiol treatments on pregnancy rate after fixed-time embryo transfer. *Animal Reproduction*, v.3, n.3, p.370-375, 2006.
- 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.
- 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.
- FONSECA, V.O. Redução do período de serviço em vacas de corte. IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, *Anais...*, Belo Horizonte, v.2, p.1-21, 1991.

- FONSECA, V.O.; NORTE, A.L.; CHOW, L.A. et al. Efeito da amamentação sobre a eficiência reprodutiva de vacas zebus. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.33, p.165-171, 1981.
- FOOTE, W.D.; HUNTER, J.E. Postpartum intervals of beef cows treated with progesterone and estrogen. *Journal of Animal Science*, v.23, p.517-520, 1964.
- GALINA, C. S.; ARTHUR, G. H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 2. Parturition and calving intervals. *Animal Breeding Abstracts*, v.57, p.679-686, 1989.
- GIMENES, L.U., SÁ FILHO, M.F., CARVALHO, N.A.T. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.852-858, 2008.
- GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Follicle selection in cattle: relationships among growth rate, diameter ranking, and capacity for dominance. *Biology of Reproduction*, v.65, p.345-350, 2001.
- GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, v.55, p.1187-1194, 1996.
- GRIFFITH, M.K.; WILLIAMS, G.L. Roles of maternal vision and olfaction in suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion, expression of maternal selectivity, and lactational performance of beef cows. *Biology of Reproduction*, v.54, p.761-768, 1996.
- HADY, P.J.; DOMEQ, J.J. KANEENE, J.B. Frequency and in dairy cattle precision of body condition scoring. *Journal of Dairy Science*, v.77, p.1543-1547, 1994.
- JOLLY, P.D.; MCDUGALL, S.; FITZPATRICK, L.A. et al. Physiological effects of undenutrition on postpartum anoestrus in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, (Supl. 49), p. 477-492, 1995.
- KASTELIC, J.P.; OLSON, W.O.; MARTINEZ, M.A. et al. Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. *Canadian Veterinary Journal*, v.40, p.173-178, 1999.
- KINDER, J.E.; KOJIMA, F.N.; BERGFELD, E.G.M. et al. Progesterone and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*, v.74, p.1424-1440, 1996.
- LAMMING, G.E.; CLAIRE WATHES, D.; PETERS, A.R. Endocrine patterns of the post-partum cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, Suppl. 30, p.155-170, 1981.
- LARA, J.L.R. *Alguns aspectos reprodutivos de um rebanho leiteiro no período pós-parto*. 1985. 58f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- LIU, Z.H.; YUE, K.Z.; MA, S.F. et al. Effects of pregnant mare serum gonadotropin (eCG) on follicle development and granulosa-cell apoptosis in the pig. *Theriogenology*, v.59, p.775-785, 2003.
- LUCY, M.C.; STAPLES, C.R.; MICHEL, F.M. et al. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.74, p.473-482, 1991.
- MACHADO, T.M.M.; NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A. et al. Dinâmica folicular na sincronização da ovulação com gonadotrofinas em vacas da raça Girolando. 47^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, *Anais*, Salvador, BA - UFBA, 27 a 30 de julho de 2010.

- MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. *Animal Reproduction Science*, v.64, p.171-180, 2000.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. The regulatory of interferon- τ production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Journal Reproduction and Fertility*, v.54, p.317-328, 1999.
- 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.; 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 5º Simposio Internacional de Reproducción Animal*, Córdoba, Argentina, 2003, p.392, (abstract).
- MARTÍNEZ, M.F.; BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2004, Londrina, *Anais...Londrina*, 2004, p.26-55.
- MARTINS Jr., A.P.; LOSI, T.C.; MENEGHETTI, M. et al. Protocolos de sincronização de ovulação a base de progesterona, estradiol e remoção de bezerros, em vacas de corte paridas. 2: Avaliação de diferentes doses de eCG. In: XVI Congresso Brasileiro de Reprodução Animal, 16, 2005, Goiânia, *Anais...Goiânia*, 2005, p.187. (Resumo).
- MARTINS, C.M.; CASTRICINI, E.S.C.; SÁ FILHO, M.F. et al. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com Cipionato ou Benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.285, 2005a.
- MARTINS, C.M.; CASTRICINI, E.S.C.; SÁ FILHO, M.F. et al. Dinâmica folicular em novilhas e vacas nelore (*Bos indicus*) tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona novo ou reutilizado associado ou não a progesterona injetável. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.227, 2005b.
- McDOUGALL, S.; BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.R. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Research in Veterinary Science*, v.58, p.212-216, 1995.
- McDOUGALL, S.; BURKE, C.R.; MACMILLAN, K.L. et al. The effect of pretreatment with progesterone on the oestrus response to oestradiol-17 β benzoate in the post-partum dairy cow. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, v.52, p.157-160, 1992.
- MENEGHETTI, M.; VASCONCELOS, J.L.M. Mês de parição, condição corporal e resposta ao protocolo de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.60, n.4, p.786-793, 2008.
- 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.; BAGUISI, A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Association between the duration of dominance of the ovulatory

- follicle and pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.102, p.123-130, 1994.
- MONTIEL, F.; AHUJA, E. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, v.85, p.1-26, 2005.
- MOORE, P.C.; ROCHA, C.M.C. Reproductive performance of gyr cows: the effect of weaning age of calves and postpartum energy intake. *Journal of Animal Science*, v.57, p.807-814, 1983.
- MORGANA, C.B.B. *Efeito do estradiol associado ao progestágeno sobre a taxa de sincronização do estro, de ovulação e prenhez em vacas zebuínas lactantes no pós-parto*. 2006. 48f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotrophin. *Endocrine Reviews*, v.12, p.27-44, 1991.
- MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. et al. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in postpartum beef suckler cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.90, p.523-533, 1990.
- MURPHY, M.G.; ENRIGHT, W.J.; CROWE, M.A. et al. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.92, p.333-338, 1991.
- NASSER, L.F.; REIS, E.L.; OLIVEIRA, M.A. et al. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* x *Bos taurus* recipients. *Theriogenology*, v.62, p.1577-1584, 2004.
- NETT, T.M. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, Suppl. 34, p.201-213, 1987.
- NOGUEIRA, L.A.G. *Alguns parâmetros clínicos e endócrinos relacionados ao retorno à atividade cíclica ovariana em vacas *Bos taurus indicus**. Tese: Doutorado em Ciência Animal. Belo Horizonte: EV-UFMG, 1994, 127p.
- ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, p.817-830, 1990.
- PATIL, J.S.; DESHPANDE, B.R. The study of body weight changes during ante-partum parturition and post-partum periods in Gir cows with special reference to exhibition of post-partum oestrus. *Indian Veterinary Journal*, v.58, p.376-379, 1981.
- PENTEADO, L.; AYRES, H.; REIS, E.L. et al. Effect of eCG and wean on pregnancy rate of lactating nelore cows fixed time artificially inseminated. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.223, 2004.
- PINHEIRO, V.G. *Taxas de prenhez em vacas Nelore, em pós-parto recente, tratadas com protocolos hormonais à base de progesterona associados ou não a remoção temporária de bezerros (RTB) e ou eCG*. 2006. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas - Área de Farmacologia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
- RAHE, C.H.; OWENS, R.E.; FLEEGER, J.L. et al. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, v.107, p.498-503, 1980.
- RAMIREZ-GODINEZ, J.A.; KIRACOFÉ, G.H.; MCKEE, R.M. et al. Reducing the incidence of short oestrous cycles in beef

- cows with norgestomet. *Theriogenology*, v.15, p.613–623, 1981.
- RANDEL, R.D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, p.853-862, 1990.
- REIS, E.L. *Efeito da dose e do momento da administração de gonadotrofina coriônica equina (eCG) no protocolo de sincronização da ovulação para transferência de embriões em tempo fixo*. 2004. 103f. São Paulo – Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- REIS, E.L.; GIMENES, L.U.; MARQUES, M.O. et al. Effect of estradiol cypionate or benzoate on follicle and luteal dynamics in nelore cows. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.236, 2004.
- RHODES, F.M.; BURKE, C.R.; CLARK, B.A. et al. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on follicular turnover in postpartum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. *Animal Reproduction Science*, v.69, p.139-150, 2002.
- RHODES, F.M.; MCDUGALL, S.; BURKE, C.R. et al. Invited Review: Treatment of cows with an extended postpartum anoestrous interval. *Journal of Dairy Science*, v.86, p.1876-1894, 2003.
- RIGOGLIO, N.N.; FÁTIMA, L.A.; HANASSAKA, J.Y. et al. Equine chorionic gonadotropin alters luteal cell morphologic features related to progesterone synthesis *Theriogenology*, v.79, p.673-679, 2012.
- ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. Postpartum anoestrus in dairy and beef cows. *Animal Reproduction Science*, v.28, p.371-378, 1992.
- RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; REIS, E.L. et al. Increased pregnancy rate in nelore cows treated with eCG in different post partum periods for fixed time artificial insemination. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.32, p.220, 2004.
- RUAS, J.R.M. *Eficiência reprodutiva e perfil metabólico de vacas zebu em relação a status reprodutivo, amamentação diferenciada e suplementação alimentar*. 1998. 107f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- RUAS, J.R.M.; BRANDÃO, F.Z.; SILVA FILHO, J.M. et al. Indução do estro no pós-parto em vacas primíparas Holandês-Zebu. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.57, p.476-484, 2005.
- RUIZ-CORTÉS, 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.
- RUSSEL, A.J.F.; WRIGHT, I.A. The use of blood metabolites in the determination of energy status in beef cows. *Animal Production*, v.37, p.335-343, 1983.
- 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, 2010a.
- 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, J.R.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, p.182-187, 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* cows. *Animal Reproduction Science*, v.120, p.23-30, 2010c.
- SÁ FILHO, M.F.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.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.; PENTEADO, L.; REIS, E.L. et al. Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular e na taxa de concepção de novilhas Nelore tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, p.265, 2005.
- SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; GIOTTO, 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*, v.124, p.12-18, 2011.
- 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.
- SARTORELLI, E.S.; CARVALHO, L.M.; BERGFELT, D.R. et al. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C. et al. Acquisition of ovulatory capacity by ovarian follicles during growth of follicular waves in lactating dairy cows. *Journal of Animal Science*, v.76, Supplement 1, p.223, 1998.
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biology Reproduction*, v.65, p.1403-1409, 2001.
- SAVIO J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R. et al. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.98, p.77-84, 1993.
- SAVIO, J.D.; BOLAND, M.P.; HYNES, N. et al. Resumption of follicular activity in the early post-partum period of dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.88, p.569-579, 1990.
- SENGER, P. L. *Pathways to pregnancy and parturition*. Second Revised Edition: Cadmus professional communications, 2005, 373p.
- SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B. et al. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, p.799-816, 1990.
- SILVA, S.G.B. *Avaliação crítica da adoção de protocolos hormonais sobre a eficiência reprodutiva de fêmeas zebuínas*. 2009. 133f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- SILVA, S.G.B; BORGES, Á.M.; RUAS, J.R.M. et al. Induction of postpartum ovarian activity in anestrus Indubrasil (*Bos indicus indicus*) cows. In: Anais...II

- International Symposium on Animal Biology of Reproduction. *Animal Reproduction*, v.6, n.1, p.321, 2009.
- SILVEIRA, P.A.; SPOON, R.A.; RYAN, D.P.; WILLIAMS, G.L. Evidence for maternal behavior as a requisite in suckling-mediated anovulation in cows. *Biology of Reproduction*, v.49, p.1338-1346, 1993.
- SINCLAIR, K.D.; REVILLA, R.; ROCHE, J.F. et al. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows. *Animal Science*, v.75, p.115-126, 2002.
- SOUMANO K.; PRICE, C.A. Ovarian follicular steroidogenic acute regulatory protein, low-density lipoprotein receptor and cytochrome P450 side-chain cleavage messenger ribonucleic acids in cattle undergoing superovulation. *Biology of Reproduction*, v.56, p.516-522, 1997.
- SOUMANO, K.; SILVERSIDES, D.W.; DOIZE, F. et al. Follicular 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase and cytochromes P450 17 α -hydroxylase and aromatase Messenger ribonucleic acids in cattle undergoing superovulation. *Biology of Reproduction*, v.55, p.1419-1426, 1996.
- SOUZA, A.H. *Inseminação artificial em tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção*. Tese (Doutorado). Pirassununga, USP. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. 2008. 152f.
- 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 on dairy cows. *Theriogenology*, v.72, p.10-21, 2009.
- SPICER, L.J.; LEUNG, K.; CONVEY, E.M. et al. Anovulation in postpartum suckled beef cows. I. Associations among size and numbers of ovarian follicles, uterine involution, and hormones in serum and follicular fluid. *Journal of Animal Science*, v.62, p.734-741, 1986.
- STAGG, K.; DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M.; ROCHE, J.F. Follicular development in long-term anoestrous suckler beef cows fed two levels of energy postpartum. *Animal Reproduction Science*, v.38, p.49-61, 1995.
- STAGG, K.; SPICER, L.J.; SREENAN, J.M. et al. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biology of Reproduction*, v.59, p.777-783, 1998.
- STAPLES, C.R.; THATCHER, W.W. Relationships between ovarian activity and energy status during the early postpartum period of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, v.73, p.938-942, 1990.
- STEWART, F.; ALLEN, W.R. Biological functions and receptor binding activities of quine chorionic gonadotrophins. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.62, p.527-536, 1981.
- THATCHER, W.W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J.E.P. et al. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology*, v.55, p.75-90, 2001.
- TRÍBULO H.; MORENO, D.; CUTAIA, L. et al. Pregnancy rates in embryo recipients treated with progesterone vaginal device and eCG and transferred without estrus detection (abstract). *Theriogenology*, 57, p.563, 2002.
- TRIMBERGER, G.W. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. *Nebraska Agriculture Experimental Station Research Bulletin*, v.153, p.1-26, 1948.

- VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M.; SANTOS, R.M. Inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.34, p.9-16, 2006.
- VASCONCELOS, J.L.M.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N. et al. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*, v.56, p.307-314, 2001.
- VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F. et al. Regressão luteal e dinâmica folicular após luteólise natural ou induzida por cloprostenol em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, p.257-262, 1999a.
- VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F. et al. Características morfológicas e funcionais do corpo lúteo durante o ciclo estral em vacas da raça Gir. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.51, p.251-256, 1999b.
- WALTERS, D.L.; SHORT, R.E.; CONVEY, E.M. et al. Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. II. Endocrine changes prior to ovulation in suckled and nonsuckled postpartum cows compared to cycling cows. *Biology of Reproduction*, v.26, p.647-654, 1982.
- 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.133-143, 1980.
- WENCESLAU, A. A. *Estudo de medidas de conformação e suas relações com características produtivas e reprodutivas em vacas da raça Gir Leiteiro*. Viçosa, MG: UFV, 1998. 75p. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Animal) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- WHISNANT, C.S.; KISER, T.E.; THOMPSON, F.N.; BARB, C.R. Influence of calf removal on the serum luteinizing hormone response to naloxone in the postpartum beef cow. *Journal of Animal Science*, v.63, p.561-564, 1986.
- WILLIAMS, G.L. Implicações da amamentação e manejo da cria na eficiência reprodutiva futura de vacas de corte. *Anais...*, V Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, p.65-73, 2001.
- WILLIAMS, G.L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *Journal of Animal Science*, v.68, p.831-852, 1990.
- WILLIAMS, G.L.; KOSIOROWSKI, M.; OSBOM, R.G. et al. The postweaning rise of tonic luteinizing hormone secretion in anestrus cows is not presented by chronic milking or the physical presence of the calf. *Biology of Reproduction*, v.36, p.1079-1084, 1987.
- WILLIAMS, G.L.; MCVEY, W.R.JR. e HUNTER, J.F. Mammary somatosensory pathways are not required for suckling-mediated inhibition of luteinizing hormone secretion and ovulation in cows. *Biology of Reproduction*, v.49, p.1328-1337, 1993.
- WILTBANK, J.N.; INGALLS, J.E.; ROWDEN, W.W. Effects of various forms and levels of estrogens alone or in combination with gonadotrophins on the estrous cycle of beef heifers. *Journal of Animal Science*, v.20, p.341, 1961.
- WILTBANK, J.N.; ROWDEN, W.W.; INGALLS, J.E. et al. Influence of postpartum energy level on reproductive performance of hereford cows restricted in energy intake prior to calving. *Journal of Animal Science*, v.23, p.1049-1053, 1964.

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

WRIGHT, I.A.; RHIND, S.M.; RUSSEL, A.J.F. et al. Effects of body condition, food intake and temporary calf separation on the duration of the post-partum anoestrous period and associated LH, FSH, and prolactin concentrations in beef cows. *Animal Production*, v.45, p.395-402, 1987.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, v.54, p.25-55, 2000a.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, v.54, p.1-23, 2000b.

ZIMBLEMAN, R.G.; SMITH, L.W. Control of ovulation in cattle with melengestrol acetate. I. Effect of dosage and route of administration. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.11, p.185-191, 1966.

ANEXOS

Quadro 1. Distribuição da precipitação pluviométrica durante o ano agrícola 2008/2009 na propriedade 1 (Fazenda Rancho Fundo - Capitão Enéas, MG)

Dia	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
1						11						
2						62				17	5	
3							5			25		
4						22	7					
5						33	54					
6						18	39					
7							15			5		
8							8		29			
9					3			48				
10										49		
11					36							
12					3							
13					17							
14					22		5	11				
15												
16					9	49						
17					10	10			35			
18					10	2						
19					5	14						
20					4							
21					3							
22					14		7					
23					22		50		75			
24						56						
25					25							
26						51			14			
27			7		11	5			37			
28										4		
29					5				20			
30					52							
31									11			
Total Mensal (mm)	0	0	7	0	251	333	190	59	221	100	5	0
Acumulado (mm)	0	0	7	7	258	591	781	840	1061	1161	1166	1166
Distribuição (%)	0.0	0.0	0.6	0.0	21.5	28.6	16.3	5.1	19.0	8.6	0.4	0.0

Quadro 2. Distribuição da precipitação pluviométrica durante o ano agrícola 2009/2010 na propriedade 1 (Fazenda Rancho Fundo - Capitão Enéas, MG)

Dia	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
1					93	9			6			
2									7			
3									8			
4									18			
5						26			5			
6						15			20			
7			22				13		33	22		
8				35					14			
9				24			20	18	7			
10					10							
11					7						18	
12									33			
13	6					10			8			
14												
15						26						
16												
17												
18												
19												
20												
21						34						
22								35	15			
23												
24				10					50			
25				4								
26								5				
27				8				3				
28				35								
29				14								
30				30	17							
31				9		25						
Total Mensal (mm)	6	0	22	169	127	145	33	61	224	22	18	0
Acumulado (mm)	6	6	28	197	324	469	502	563	787	809	827	827
Distribuição (%)	0.7	0.0	2.7	20.4	15.4	17.5	4.0	7.4	27.1	2.7	2.2	0.0

TABELAS ESTATÍSTICAS

As Tabelas estão separadas por propriedade e seguem a ordem das análises estatísticas apresentadas na dissertação.

Propriedade 1

Análise 1. Diâmetro do folículo dominante das vacas zebuínas em anestro pós-parto de acordo com a fase experimental no ano de 2009

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Fase	1	12,44455	12,44455	4,095	0,04572
Resíduo	98	297,7855	3,038627		
Coefficiente de variação	14,300				

Análise 2. Dias pós-parto das vacas zebuínas em anestro pós-parto de acordo com a fase experimental no ano de 2009

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Fase	1	8792,818	8792,818	5,461	0,02149
Resíduo	98	157804,2	1610,247		
Coefficiente de variação	41,157				

Análise 3. Escore de condição corporal das vacas zebuínas em anestro pós-parto de acordo com a fase experimental no ano de 2009

Teste de Wilcoxon			
Fase	Descrição	Médias	Dados
1		3,12281	57
2		3,41111	45
Valor do Teste	3,67669		
Variância	18604,96484		
Significância	0,00012		

Análise 4. Diâmetro do folículo dominante das vacas zebuínas em anestro pós-parto de acordo com a fase experimental no ano de 2010

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Fase	1	0,4250467	0,4250467	0,095	****
Resíduo	72	323,5495	4,493744		
Coefficiente de variação	15,974				

Análise 5. Dias pós-parto das vacas zebuínas em anestro pós-parto de acordo com a fase experimental no ano de 2010

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Fase	1	45,97131	45,97131	0,058	****
Resíduo	72	57311,93	795,99991		
Coefficiente de variação	45,416				

Análise 6. Escore de condição corporal das vacas zebuínas em anestro pós-parto de acordo com a fase experimental no ano de 2010

Teste de Teste de Wilcoxon			
Fase	Descrição	Médias	Dados
1		3,29348	45
2		3,56034	30
Valor do Teste	2,51630		
Variância	7959,89404		
Significância	0,00593		

Análise 7. Número de animais gestantes de acordo com o período da estação de monta em que se realizou o protocolo de sincronização da ovulação

Período	Gestantes	Não gestantes	Total	P	Abril
Fevereiro	59	43	102	P	0,0009
Abril	25	52	77		
Teste estatístico	GL				
Exato de Fisher	1				

Análise 8. Número de animais gestantes de acordo com a manifestação do estro

Período	Gestantes	Não gestantes	Total	P	Sem estro
Com estro	60	59	119	P	0,3992
Sem estro	21	29	50		
Teste estatístico	GL				
Exato de Fisher	1				

Análise 9. Número de animais não gestantes que apresentavam corpo lúteo ou mantiveram em anestro aos 30 dias da inseminação artificial de acordo com o período da estação de monta em que se realizou o protocolo de sincronização da ovulação

Período	Corpo lúteo	Em anestro	Total	P	Abril
Fevereiro	18	25	43	P	0,834
Abril	20	32	52		
Teste estatístico	GL				
Exato de Fisher	1				

Propriedade 2

Análise 10. Diâmetro do folículo dominante das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 1ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	123,5330	61,76650	39,226	0,00000
Resíduo	56	88,17921	1,574629		
Coefficiente de variação	12,105				

Análise 11. Diâmetro do folículo dominante das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 2ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	131,6544	65,82718	28,921	0,00000
Resíduo	40	91,04471	2,276118		
Coefficiente de variação	13,124				

Análise 12. Idade das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 1ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0.1928492	0.9642462E-01	0,013	****
Resíduo	56	407.6119	7.278784		
Coefficiente de variação	45,488				

Análise 13. Idade das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 2ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	6,281673	3,140837	0,685	****
Resíduo	40	183,3268	4,583171		
Coefficiente de variação	30,539				

Análise 14. Escore de condição corporal das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 1ª etapa do experimento

Teste de Kruskal – Wallis			
Classe	Classe	Diferença Observada	Diferença mínima significativa (P = 0,05)
1	2	12.37500	13.03533
1	3	6.69210	13.20573
2	3	5.68289	13.20573

Análise 15. Escore de condição corporal das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 2ª etapa do experimento

Teste de Kruskal – Wallis			
Classe	Classe	Diferença Observada	Diferença mínima significativa (P = 0,05)
1	2	4,75000	11,39021
1	3	1,30000	11,19877
2	3	3,45000	11,19877

Análise 16. Dias pós-parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 1ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	20,31195	10,15598	0,185	****
Resíduo	56	3081,247	55,02227		
Coefficiente de variação	17,747				

Análise 17. Dias pós-parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 2ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	3,439424	1,719712	0,013	****
Resíduo	40	5179,305	129,4826		
Coefficiente de variação	22,993				

Análise 18. Ordem de parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 1ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0.2520071E-01	0.1260036E-01	0,003	****
Resíduo	56	256.3816	4.578242		
Coeficiente de variação	62,496				

Análise 19. Ordem de parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início da 2ª etapa do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	1,884607	0,9423034	0,285	****
Resíduo	40	132,1619	3,304048		
Coeficiente de variação	41,575				

Análise 20. Número de animais pertencentes aos tratamentos T1, T2 e T3 que ovularam após o final do tratamento hormonal com progesterona e estradiol associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG, nas duas etapas experimentais

Tratamento	Ovularam	Não ovularam	Total	P	T2	T3
1	27	7	34	P	0,5118	1.0000
2	30	4	34	P		0,7337
3	28	6	34			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 21. Área e volume dos corpos lúteos das fêmeas que ovularam dos tratamentos T1, T2 e T3, decorridos 10 dias do final do tratamento hormonal, nas duas etapas experimentais

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	2,208306	1,104153	1,654	0,19787
Resíduo	79	52,74420	0,6676481		
Coeficiente de variação	31,488				
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	6,464260	3,232130	1,583	0,21171
Resíduo	79	161,2583	2,041244		
Coeficiente de variação	46,947				

Análise 22. Concentração plasmática de progesterona das fêmeas que ovularam dos tratamentos T1, T2 e T3, decorridos 10 dias do final do tratamento hormonal, nas duas etapas experimentais

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	1,769548	0,8847738	0,226	****
Resíduo	81	317,2344	3,916474		
Coeficiente de variação					

Análise 23. Número de animais pertencentes aos tratamentos T1, T2 e T3 que ovularam após o final do tratamento hormonal com progesterona e estradiol, associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG

Tratamento	Ovularam	Não ovularam	Total	P	T2	T3
1	11	3	14	P	0,5956	1,0000
2	13	1	14	P		0,5977
3	12	3	15			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 24. Número de animais gestantes aos 30 dias após o final do tratamento hormonal da 2ª etapa

Tratamento	Gestantes	Não Gestantes	Total	P	T2	T3
1	6	8	14	P	1,0	1,0
2	6	8	14	P		1,0
3	6	9	15			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 25. Número de animais gestantes em relação ao número de animais que ovularam após o final do tratamento hormonal da 2ª etapa do experimento

Tratamento	Gestantes	Não Gestantes	Total	P	T2	T3
1	6	5	11	P	1,0	1,0
2	6	7	13	P		1,0
3	6	6	12			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 26. Área e volume dos corpos lúteos dos animais gestantes (T1, T2 e T3), 10 dias após o final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,1103567	0,5517833E-01	0,145	****
Resíduo	13	4,930643	0,3792803		
Coeficiente de variação	22,034				
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	1,889154	0,9445769	0,612	****
Resíduo	13	20,06415	1,543396		
Coeficiente de variação	36,521				

Análise 27. Área e volume dos corpos lúteos 20 dias após o final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,9899174E-01	0,4949587E-01	0,190	****
Resíduo	13	3,383489	0,2602684		
Coeficiente de variação	19,164				
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,8844595	0,4422297	0,478	****
Resíduo	13	12,01717	0,9243973		
Coeficiente de variação	31,389				

Análise 28. Área e volume dos corpos lúteos 30 dias após o final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	13	0,3150375E-01	0,1575188E-01	0,085	****
Resíduo	2	2,398670	0,1845131		
Coeficiente de variação 15,086					
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,6508347	0,3254174	0,340	****
Resíduo	13	12,44955	0,9576578		
Coeficiente de variação 30,003					

Análise 29. Área e volume de corpos lúteos dos animais gestantes de acordo com o período (10, 20 e 30 dias) das avaliações realizadas após a inseminação artificial

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,2880482	0,1440241	0,568	***
Dia	2	0,1865678	0,9328389E-01	0,368	*****
Tratamento x Dia	4	0,9639490E-01	0,2409873E-01	0,095	*****
Resíduo	43	10,90772	0,2536679		
Coeficiente de variação 18,177					
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	4,453727	2,226864	1,967	0,15225
Dia	2	0,5213056	0,2606528	0,230	*****
Tratamento x Dia	4	0,5658564	0,1414641	0,125	*****
Resíduo	43	48,67950	1,132081		
Coeficiente de variação 32,723					

Propriedade 3**Análise 30.** Diâmetro do folículo dominante das vacas Gir Leiteiro em anestro no início do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	250,3771	125,1886	89,277	0,00000
Resíduo	99	138,8219	1,402241		
Coeficiente de variação 10,961					

Análise 31. Idade das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	41,90669	20,95335	1,869	0,16028
Resíduo	90	1009,219	11,21355		
Coeficiente de variação 45,058					

Análise 32. Escore de condição corporal das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento

Teste de Kruskal – Wallis			
Classe	Classe	Diferença Observada	Diferença mínima significativa (P = 0,05)
1	2	3,68056	17,88107
1	3	6,07695	17,75985
2	3	9,75751	17,75985

Análise 33. Peso das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	13685,57	6842,784	3,266	0,04196
Resíduo	108	226273,5	2095,125		
Coeficiente de variação	12,411				

Análise 34. Dias pós-parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, no início do experimento

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	2465,167	1232,583	1,192	0,31301
Resíduo	45	46531,50	1034,033		
Coeficiente de variação	23,443				

Análise 35. Diâmetro do folículo dominante de vacas Gir Leiteiro ao final do tratamento hormonal

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	16,57008	8,285041	2,875	0,06085
Resíduo	106	305,5118	2,882186		
Coeficiente de variação	17,924				

Análise 36. Diâmetro do folículo dominante de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, no período correspondente à inseminação artificial

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	25,13923	12,56961	2,605	0,07863
Resíduo	106	511,4501	4,825001		
Coeficiente de variação	19,637				

Análise 37. Número de animais pertencentes aos tratamentos T1, T2 e T3 detectados em estro após o final do tratamento hormonal com progesterona e estradiol associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG

Tratamento	Estro	Sem estro	Total	P	T2	T3
1	30	7	37	P	1,0	0,152
2	30	7	37	P		0,152
3	35	2	37			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 38. Taxa de crescimento do folículo dominante (mm/dia) de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, durante o período final do tratamento hormonal à inseminação artificial

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	3,772134	1,886067	7,577	0,00085
Resíduo	104	25,88770	0,2489202		
Coeficiente de variação	67,558				

Análise 39. Intervalo (horas) da retirada do implante de progesterona ao estro

Análise de variância					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	34,38035	17,19018	0,124	****
Resíduo	94	13007,99	138,3829		
Coeficiente de variação	27,589				

Análise 40. Número de animais pertencentes aos tratamentos T1, T2 e T3 que ovularam após o final do tratamento hormonal com progesterona e estradiol associado (T2) ou não (T1 e T3) à eCG

Tratamento	Ovulou	Não ovulou	Total	P	T2	T3
1	17	20	37	P	0,008	0,032
2	29	8	37	P		0,780
3	27	10	37			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 41. Área e volume dos corpos lúteos das fêmeas que ovularam dos tratamentos T1, T2 e T3, decorridos 10 dias do final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	4,981920	2,490960	5,945	0,00413
Resíduo	70	29,33204	0,4190291		
Coefficiente de variação	27,517				
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	9,565186	4,782593	4,829	0,01084
Resíduo	70	69,32063	0,9902947		
Coefficiente de variação	41,445				

Análise 42. Concentração plasmática de progesterona das fêmeas que ovularam dos tratamentos T1, T2 e T3, decorridos 10 dias do final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	18,31169	9,155845	2,687	0,07539
Resíduo	67	228,2591	3,406853		
Coefficiente de variação	59,878				

Análise 43. Número de animais pertencentes aos tratamentos T1, T2 e T3 que ovularam após o final do tratamento hormonal em relação ao número de animais que foram detectados em estro nos respectivos grupos experimentais

Tratamento	Ovulou	Não ovulou	Total	P	T2	T3
1	16	14	30	P	0,003	0,118
2	27	3	30	P		0,122
3	26	9	35			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 44. Número de animais gestantes aos 30 dias do final do tratamento hormonal em relação ao total de animais tratados nos grupos experimentais T1, T2 e T3

Tratamento	Gestantes	Não Gestantes	Total	P	T2	T3
1	7	30	37	P	0,024	0,040
2	17	20	37	P		1,0
3	16	21	37			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 45. Número de animais gestantes em relação ao número de animais que foram detectados em estro após o tratamento hormonal nos grupos experimentais T1, T2 e T3

Tratamento	Gestantes	Não Gestantes	Total	P	T2	T3
1	6	24	30	P	0,015	0,065
2	16	14	30	P		0,460
3	15	20	35			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 46. Número de animais gestantes em relação ao número de animais que ovularam após o tratamento hormonal nos grupos experimentais T1, T2 e T3

Tratamento	Gestantes	Não Gestantes	Total	P	T2	T3
1	7	10	17	P	0,360	0,353
2	17	12	29	P		1,0
3	16	11	27			
Teste estatístico	GL					
Exato de Fisher	1					

Análise 47. Área e volume de corpos lúteos dos animais gestantes (T1, T2 e T3), 10 dias após o final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	2,237555	1,118778	2,755	0,07668
Resíduo	37	15,02584	0,4061039		
Coefficiente de variação	25,829				
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	4,582665	2,291333	2,307	0,11371
Resíduo	37	36,74800	0,9931892		
Coefficiente de variação	38,788				

Análise 48. Área e volume de corpos lúteos dos animais gestantes (T1, T2 e T3), 20 após o final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,8353278	0,4176639	2,689	0,08119
Resíduo	37	5,746262	0,1553044		
Coefficiente de variação	15,792				
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,9941398	0,4970699	1,371	0,26644
Resíduo	37	13,41430	0,3625486		
Coefficiente de variação	23,374				

Análise 49. Área e volume de corpos lúteos dos animais gestantes (T1, T2 e T3), 30 dias após o final do tratamento hormonal

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	0,5684622	0,2842311	1,745	0,18877
Resíduo	37	6,027835	0,1629145		
Coeficiente de variação 16,432					
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	1,559671	0,7798353	1,758	0,18652
Resíduo	37	16,41470	0,4436405		
Coeficiente de variação 26,113					

Análise 50. Área e volume de corpos lúteos dos animais gestantes de acordo com o período (10, 20 e 30 dias) das avaliações realizadas após a inseminação artificial

Análise de variância (Área)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	3,013771	1,506886	6,241	0,00271
Dia	2	0,6469962E-02	0,3234981E-02	0,013	■■■■■■■
Tratamento x Dia	4	0,6275738	0,1568935	0,650	■■■■■■■
Resíduo	111	26,79994	0,2414409		
Coeficiente de variação 19,865					
Análise de variância (Volume)					
Fonte de variação	GL	Soma dos Quadrados	Quadrado Médio	F	P
Tratamento	2	4,861040	2,430520	4,052	0,02003
Dia	2	0,2450904E-01	0,1225452E-01	0,020	■■■■■■■
Tratamento x Dia	4	2,275436	0,5688589	0,948	■■■■■■■
Resíduo	111	66,57700	0,5997928		
Coeficiente de variação 30,189					