

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal**

**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**

THIAGO FERNANDES AMARAL

**Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2009**

Thiago Fernandes Amaral

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

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

Área de Concentração: Reprodução Animal

Orientador: Prof. *Álan Maia Borges*

Co-orientador: Dr. *José Reinaldo Mendes Ruas*

Belo Horizonte
Escola de Veterinária – UFMG
2009

AGRADECIMENTOS

À Escola de Veterinária da UFMG, por tornar possível a realização deste trabalho.

À FAPEMIG, por financiar o projeto de pesquisa (APQ 3090-5).

À Capes, pela concessão de bolsa de estudo.

Ao meu orientador, Prof. Álan Maia Borges, pelos ensinamentos, dedicação, confiança, amizade, paciência e por ser um exemplo profissional e pessoal.

Ao Dr. José Reinaldo Mendes Ruas, pelos valiosos ensinamentos, disponibilidade, amizade e por não poupar esforços durante a co-orientação.

Aos Professores Ciro Alexandre Alves Torres, Felipe Zandonadi Brandão, Marc Henry e Sandra Gesteira Coelho pelas sugestões e participação da banca examinadora.

À toda família e funcionários da Fazenda Canoas (Luz – MG), na pessoa de Tânia Fiúza, pela acolhida, amizade e disponibilidade dos animais e estrutura para realização do experimento.

À Janine Ivo, pela ajuda na dosagem das amostras de progesterona.

Aos demais professores da Escola de Veterinária da UFMG que contribuíram para a minha formação profissional.

Às funcionárias do Colegiado de Pós-Graduação e do DCCV, pela prontidão em nos atender.

Aos amigos da turma Boi da Cara Preta. Aos amigos da pós-graduação e toda equipe sob a orientação do Prof. Álan.

À minha querida família pelo carinho, amor, apoio, paciência durante toda essa etapa.

À Ana Paula, meu girassol, pelo amor, apoio, companheirismo, compreensão e paciência.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| LISTA DE TABELAS | 4 |
| LISTA DE FIGURAS | 5 |
| LISTA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS | 5 |
| RESUMO | 7 |
| ABSTRACT | 8 |
| 1. Introdução | 9 |
| 2. Revisão de Literatura | 12 |
| 2.1. Retorno à atividade ovariana no pós-parto de bovinos | 12 |
| 2.2. Escore da condição corporal, amamentação e seus efeitos na reprodução.. | 14 |
| 2.3. Estratégias hormonais para antecipar o retorno da atividade ovariana no pós-parto de bovinos | 17 |
| 2.4. Relação do diâmetro do folículo dominante ao início do protocolo com progesterona e a capacidade ovulatória de bovinos..... | 19 |
| 3. Material e Métodos | 25 |
| 3.1. Local idade e animais | 25 |
| 3.2. Grupos experimentais | 26 |
| 3.3. Detecção do estro e inseminações artificiais | 28 |
| 3.4. Outras avaliações ginecológicas e ultra-sonográficas | 28 |
| 3.5. Coleta de sangue e dosagem hormonal | 29 |
| 3.6. Análises Estatísticas | 29 |
| 4. Resultados e Discussão | 30 |
| 4.1. Escore de condição corporal (ECC) e diâmetro do folículo dominante ao término dos tratamentos hormonais (T2 e T4) ou no período equivalente (T1 e T3) | 30 |
| 4.2. Taxa de manifestação de estro e intervalo da retirada do implante de progesterona à manifestação do estro | 33 |
| 4.3. Taxa de ovulação, área e volume dos corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) a tratamento hormonal com progesterona e estradiol | 35 |
| 4.4. Período de serviço de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas ou não a protocolo hormonal com progesterona e estradiol | 42 |
| 4.5. Área e volume dos corpos lúteos, e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas a protocolo hormonal com progesterona e estradiol | 43 |
| 5. Conclusões | 47 |
| 6. Referências Bibliográficas | 48 |
| 7. Anexos | 57 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------------|--|----|
| Tabela 1 | Intervalo, em dias, do tratamento à retomada da AOLC e porcentagem de gestação (50 dias após término da estação de monta) de animais amamentando (A), amamentando e tratados com hormônio (A + C), desmamados (D) e desmamados e tratados com hormônio (D + C) | 24 |
| Tabela 2 | Médias da idade, ordem de parto, dias pós-parto das vacas de T1, T2, T3, T4 | 26 |
| Tabela 3 | Diâmetro (mm) do maior folículo ovariano no primeiro dia da implantação dos tratamentos hormonais | 27 |
| Tabela 4 | Escore de Condição Corporal (ECC) e diâmetro do folículo dominante no período correspondente ao início e fim do tratamento hormonal, com progesterona e estrógeno, de vacas da raça Gir Leiteiro, em anestro pós-parto | 31 |
| Tabela 5 | Taxa de manifestação de estro de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, no período equivalente ao término do protocolo hormonal com progesterona e estradiol | 34 |
| Tabela 6 | Intervalo (horas) da retirada do implante de progesterona (CIDR) ao estro de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto | 35 |
| Tabela 7 | Taxa de ovulação, características luteais e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto e submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) a tratamento com progesterona e estradiol | 36 |
| Tabela 8 | Número de fêmeas gestantes após 30 dias da terapia hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4), ou no período correspondente para os demais grupos experimentais (T1 e T3) | 38 |
| Tabela 9 | Número de vacas da raça Gir Leiteiro que mantiveram a ciclicidade ou retornaram ao anestro após a utilização (T2 e T4) ou não (T1 e T3) de protocolo hormonal | 40 |
| Tabela 10 | Taxas de gestação aos 30 dias após a inseminação artificial de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) ao tratamento hormonal com progesterona e estradiol | 42 |
| Tabela 11 | Taxa de gestação acumulada e período de serviço de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas ou não a protocolo hormonal com progesterona e estradiol | 43 |
| Tabela 12 | Área (cm ²) e volume (cm ³) dos corpos lúteos, e concentração plasmática de progesterona (ng/mL), decorridos 8, 21, 35 e 49 dias da ovulação induzida, de vacas da raça Gir Leiteiro tratadas com progesterona e estradiol | 43 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------------|--|----|
| Figura 1 | Desenvolvimento folicular de vacas Gir do quarto ao quinquagésimo dia pós-parto..... | 14 |
| Figura 2 | Volume do corpo lúteo em função dos dias após indução da ovulação de vacas da raça Gir Leiteiro, em anestro pós parto, tratadas com progesterona e estrógeno | 44 |
| Figura 3 | Concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir em função dos dias após indução da ovulação | 45 |

LISTA DE ANÁLISES ESTATÍSTICAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Análise 1 | Idade das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento | 57 |
| Análise 2 | Dias pós-parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento | 57 |
| Análise 3 | Ordem de parto das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento | 57 |
| Análise 4 | Escore de condição corporal das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento | 57 |
| Análise 5 | Diâmetro do folículo dominante das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento | 58 |
| Análise 6 | Diâmetro do folículo dominante das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, no período correspondente ao término do tratamento hormonal com progesterona e estradiol | 58 |
| Análise 7 | Diferença do diâmetro do folículo dominante de acordo com o tratamento, no período correspondente ao início e final do protocolo hormonal | 58 |
| Análise 8 | Taxa de manifestação de estro de vacas da raça Gir Leiteiro pertencentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 ao término do tratamento hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4) ou no período equivalente | 58 |
| Análise 9 | Intervalo (h) da retirada do CIDR ao estro das vacas dos tratamentos T2 e T4 | 59 |
| Análise 10 | Número de fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 que ovularam após protocolo hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4), ou no período correspondente (T1 e T3) | 59 |
| Análise 11 | Número de fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 gestantes aos 30 dias do término do tratamento hormonal para indução da ciclicidade (T2 e T4), ou não (T1 e T3) | 59 |
| Análise 12 | Número de fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 com gestação confirmada no final do experimento (taxa de gestação acumulada) | 59 |
| Análise 13 | Período de serviço de vacas da raça Gir submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) a protocolo hormonal com progesterona e estradiol | |

| | | |
|-------------------|---|----|
| | para indução da ciclicidade, no pós-parto precoce | 60 |
| Análise 14 | Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos oito dias da indução da ovulação .. | 60 |
| Análise 15 | Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos 21 dias da indução da ovulação .. | 61 |
| Análise 16 | Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos 35 dias da indução da ovulação .. | 61 |
| Análise 17 | Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos 49 dias da indução da ovulação .. | 62 |
| Análise 18 | Regressão linear do volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4 | 62 |

RESUMO

Foi estudado a influência do diâmetro do folículo dominante ao início do protocolo hormonal com progesterona e estradiol, sobre as taxas de indução da ovulação e de gestação de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto. Foram utilizadas 100 vacas com média de $66,1 \pm 24,5$ dias pós-parto, mantidas sob regime de duas amamentações diárias, e distribuídas em quatro tratamentos com 25 animais: T1 = vacas com folículo dominante de diâmetro inferior a 10 mm e não tratadas com hormônios; T2 = vacas com folículo dominante de diâmetro inferior a 10 mm e submetidas a protocolo hormonal com progesterona e estradiol; T3 = vacas com folículo dominante de diâmetro maior ou igual a 10mm e não tratadas com hormônios; e T4 = vacas com folículo dominante de diâmetro maior ou igual a 10 mm e submetidas a protocolo hormonal com progesterona e estradiol. As avaliações ultra-sonográficas foram realizadas para mensuração do diâmetro folicular no dia da colocação do implante de progesterona (dia 0), para a confirmação da presença (dia 8) e manutenção de corpo lúteo (dia 21), além da confirmação de gestação (dia 30). A detecção de estro foi realizada duas vezes ao dia e as inseminações artificiais realizadas após 12 horas. Amostras de sangue foram coletadas para dosagem de progesterona, nos mesmos dias das avaliações ultra-sonográficas. Observou-se 4% dos animais de T1 e T3 manifestando estro, contra 100% dos animais de T2 e T4. No período correspondente à confirmação da ovulação, 16% e 28% das fêmeas de T1 e T3, respectivamente, ovularam espontaneamente; enquanto que 60% das fêmeas de T2 e 88% das de T4 ovularam após o protocolo. As taxas de gestação, após 30 dias das inseminações, foram de 52% para as fêmeas de T4, e de 0%, 20% e 16% para T1, T2 e T3, respectivamente. A área (cm²) e volume (cm³) dos corpos lúteos das vacas gestantes de T2 e T4 não foram diferentes, porém, o volume luteal aumentou de forma linear em função dos dias após indução da ovulação.

Palavras-chave: anestro pós-parto, diâmetro do folículo dominante, Gir Leiteiro, protocolo hormonal, progesterona

ABSTRACT

This study was done to evaluate the influence of the dominant follicle diameter at beginning of progesterone and estradiol protocol, on ovulation and pregnancy rates of 100 postpartum anestrous Gyr cows. Cows were maintained on pasture and under twice daily suckling, average 66.1 ± 24.5 days postpartum. Animals were allocated into four treatments with 25 animals each ones: T1 = diameter of dominant follicle less than 10 mm and not treated with hormonal protocol; T2 = diameter of dominant follicle less than 10 mm and treated with progesterone and estradiol protocol; T3 = diameter of dominant follicle greater than or equal to 10 mm and not treated with hormonal protocol; and T4 = diameter of dominant follicle greater than or equal to 10 mm and treated with progesterone and estradiol protocol. Ultrasonographic examinations were made on the ovaries to monitoring the follicular diameter on days of progesterone device insertion (day 0), to detect corpus luteum on days 8 and 21 after ovulation, and at day 30 of pregnancy. Estrus detection was performed twice daily and artificial inseminations after 12 hours. Blood samples were obtained on same days of ultrasonographic examinations for determination of progesterone concentration. Standing estrus was detected in 4% of the cows of T1 and T3, and in 100% of animals in T2 and T4. Spontaneously ovulation was detected in 16% and 28% of the cows of nontreated group (T1 and T3, respectively), while 60% (T2) and 88% (T4) of animals ovulated after progesterone and estradiol protocol. Pregnancy rates after 30 days of artificial inseminations were 52% of cows from T4, and 0%, 20% and 16% of females of T1, T2 and T3, respectively. The area (cm²) and volume (cm³) of the corpus luteum did not differ between pregnant cows from T2 and T4, but the volume increased linearly as a function of days after induction of ovulation.

Keywords: diameter of dominant follicle, Gyr, hormonal protocol, postpartum anestrous, progesterone

1. Introdução

O Brasil detém o maior efetivo bovino em termos comerciais do mundo, e que é compreendido por 80-90% de zebuínos puros (*Bos taurus indicus*) ou mestiços com raças européias (*Bos taurus taurus*). A maior participação de zebuínos confere longevidade, resistência a parasitos e adaptabilidade às condições adversas inerentes às regiões tropicais e subtropicais (Abeygunawardena e Dematawewa, 2004), normalmente caracterizadas por elevadas temperaturas e umidade, além da sazonalidade na produção de forrageiras. Contudo, o desempenho reprodutivo de raças zebu, dentre elas a Gir, ainda deixa a desejar, principalmente devido ao longo período para o retorno à atividade ovariana pós-parto (Galina e Arthur, 1989), o que leva ao maior período de serviço e ao longo intervalo de partos, de $495,86 \pm 1,03$ dias ou $16,26 \pm 0,03$ meses, em avaliações de 8.168 registros com animais da raça Gir (Balieiro et al., 1999).

O prolongado anestro pós-parto ou a ausência de atividade ovariana luteal cíclica (AOLC) são resultantes da involução uterina, balanço energético negativo, mobilização de reservas corporais, produção de leite, presença da cria e amamentação, deficiências nutricionais, época do ano, raça, genótipo, idade e ordem de parto da fêmea (Short et al., 1990), e que podem determinar perdas econômicas aos sistemas de produção.

Para antecipar o primeiro estro e ovulação no pós-parto de vacas zebu acíclicas e amamentando pode-se utilizar terapias hormonais, dentre elas os protocolos à base de implantes de progesterona associados ao estradiol (Foote e Hunter, 1964; Saiduddin et al., 1968; Brown et al., 1972; Bolaños et al., 1997; Borges, 2001). Alguns animais não ovulam após a utilização hormonal e isto se deve, provavelmente, à ausência de um folículo dominante responsivo aos sinais pré-ovulatórios no momento da indução ou, então, devido à não maturação do folículo dominante

oriundo do tratamento hormonal (Burke et al., 2001).

As taxas de ovulação e gestação, após tratamento hormonal com progestágenos, são superiores para animais que apresentam folículos dominantes com maiores diâmetros (Rhodes et al., 2003). Segundo Gimenes et al. (2008), a capacidade ovulatória do folículo dominante de novilhas zebu é de 80 a 90% quando seu diâmetro ultrapassa 8,5 – 10 mm. Como o folículo dominante ovulatório de vacas da raça Gir Leiteiro cíclicas apresenta diâmetro entre 10 e 13 mm (Borges, 2001), isto indica que pode haver maior probabilidade de respostas satisfatórias aos protocolos hormonais quando os folículos possuem maiores medidas, haja vista zebuínos possuírem menor diâmetro de folículo ovulatório.

O objetivo desta pesquisa foi estudar a capacidade de resposta (taxas de indução de estro, de ovulação, de gestação aos 30 dias, de retorno à ciclicidade, período de serviço, características luteais e concentração plasmática de progesterona) a um

protocolo hormonal com progesterona e estradiol em vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, segundo duas classes de diâmetro folicular ao início da terapia hormonal.

2. Revisão de Literatura

2.1. Retorno à atividade ovariana no pós-parto de bovinos

Durante as últimas semanas de gestação o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano está inibido pelas altas concentrações de progesterona (Nett, 1987), que variam de $11,2 \pm 0,9$ ng/mL (três a quatro semanas pré-parto) a $8,0 \pm 0,6$ ng/mL (uma a duas semanas; Edgerton e Hafs, 1973). Também, as concentrações de estradiol estão elevadas ($67,9 \pm 24,4$ pg/mL; Echternkamp e Hansel, 1973) e alcançam valores sete vezes superiores às encontradas no estro ($3-10$ pg/mL; Gonzáles, 2002). A associação das elevadas concentrações de progesterona e estradiol reduz em 95% a concentração hipofisária de LH, bem como a frequência e amplitude da secreção de LH que, gradativamente,

vai aumentando ao longo do período pós-parto (Hanzen, 1986; Nett, 1987).

Segundo Lamming et al. (1981), as concentrações de LH vão sendo restabelecidas por volta de 10 a 20 dias pós-parto, como resultado da retirada dos efeitos inibitórios dos esteróides provenientes da gestação. Arije et al. (1974) verificaram concentração média de LH de $1,1 \pm 0,26$ ng/mL do pré-parto ao parto, $1,3 \pm 0,44$ ng/mL nos primeiros 21 dias de pós-parto, e pico de 42,4 ng/mL durante o estro de vacas de corte.

As concentrações de FSH hipofisário também estão reduzidas (Nett, 1987). Contudo, são rapidamente restabelecidas dentro de três a quatro

dias após o parto (Roche et al., 1992), e resultam no recrutamento e seleção do primeiro folículo dominante que, geralmente, falha em ovular e regride devido à baixa frequência (<1 pulso/4 horas; Short et al., 1990) dos pulsos de LH (Lamming et al., 1981). Borges et al. (2004) encontraram sucessivas ondas de crescimento folicular a partir do quarto dia pós-parto de vacas da raça Gir Leiteiro mantidas amamentando seus bezerros. Os autores verificaram que nenhum animal apresentou estro, ovulação ou luteinização folicular no período até 50 dias pós-parto (Figura 1) e, ainda, verificaram $5,2 \pm 1,2$ ondas foliculares, cujo diâmetro máximo do folículo dominante foi, em média, de $8,9 \pm 0,6$ mm, com valor mínimo de 8 e máximo de 13 mm.

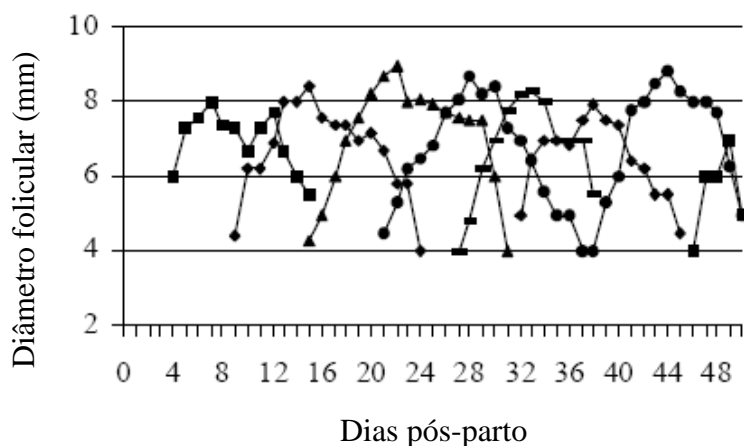


Figura 1: Desenvolvimento folicular de vacas da raça Gir Leiteiro do quarto ao quinquagésimo dia pós-parto (Adaptado de Borges et al., 2004).

A porcentagem de vacas em anestro pós-parto está relacionada com o intervalo do parto ao desenvolvimento de um folículo dominante, bem como pela sua exposição ao aumento da frequência dos pulsos de LH, característicos da fase de dominância folicular. Para que ocorra ovulação é necessário o estabelecimento de secreção pulsátil de LH, responsável pela produção de estrógenos, pelo crescimento final e ovulação do folículo dominante (Roche et al., 1992). A frequência inadequada de pulsos de LH resulta em menor produção de andrógenos e, portanto, as concentrações de estradiol não aumentam. Logo, a diferenciação e maturação do folículo dominante não se completa e, portanto, o folículo torna-se atresico (Roche et al., 1992), regride e possibilita o surgimento de nova onda folicular.

O estudo de Stagg et al. (1998) sustenta a afirmativa acima pois descreve que as concentrações de LH estão relacionadas com estágio de desenvolvimento do folículo na onda folicular, sendo que a concentração média é maior ($P < 0,05$) na

fase de dominância ($1,37 \pm 0,16$ ng/mL) do que nas fases de emergência ($1,18 \pm 0,16$ ng/mL) e seleção ($1,2 \pm 0,19$ ng/mL) foliculares.

Outros fatores, tais como a nutrição, o escore de condição corporal (ECC) ao parto, a presença da cria e a amamentação também podem contribuir aditivamente na velocidade para o restabelecimento dos estoques e da secreção de LH (Williams, 1990) e, portanto, na capacidade dos animais ovularem no pós-parto.

Vacas em regime de amamentação apresentam menores concentrações de LH em relação àquelas que não amamentam (Carruthers et al., 1980). Verifica-se 60% de redução na frequência ($0,9 \pm 0,2$ picos/4 horas e $2,1 \pm 0,2$ picos/4 horas) e 40% na amplitude ($1,8 \pm 0,1$ ng/mL e $3,1 \pm 0,9$ ng/mL) de LH para vacas amamentando ou não, respectivamente. Ao contrário, as concentrações de FSH durante a primeira ($65,2 \pm 7,6$ e $56,2 \pm 6,3$ ng/mL) e segunda ($66,6 \pm 12,6$ e $66,1 \pm 7,8$ ng/mL) semanas pós-parto não diferem entre vacas amamentando ou

não seus bezerros, respectivamente. Esses dados corroboram o início precoce do desenvolvimento folicular sem ovulação no pós-parto de bovinos (Lamming et al., 1981).

Ruiz-Cortés e Olivera-Angel (1999), na Colômbia, estudaram o pós-parto de 17 vacas zebu em anestro, amamentando e mantidas exclusivamente em regime de pastejo. Foram verificadas $12,3 \pm 5,2$ ondas foliculares até a primeira ovulação pós-parto, com folículos dominantes de diâmetros máximos entre $8,0 \pm 1,0$ mm e $9,0 \pm 2,7$ mm. Segundo estes autores, o intervalo de partos médio de vacas amamentando variou de 15,6 a 17,6 meses. Neste estudo, a primeira ovulação ocorreu, em média, aos 249 ± 12 dias pós-parto e com folículo ovulatório apresentando média de $9,6 \pm 1,8$ mm.

2.2. Relação da nutrição, escore da condição corporal e amamentação na reprodução de bovinos

O efeito da nutrição sobre a reprodução está relacionado com a qualidade e quantidade da dieta ingerida, com as reservas corporais de energia e com a

partição de nutrientes que o organismo prioriza em determinado estágio fisiológico, podendo ser classificado, em ordem decrescente: metabolismo basal, atividade, crescimento, reserva energética, prenhez, lactação, reservas adicionais de energia, manutenção da atividade cíclica e início de prenhez, reservas excedentes de energia (Short et al., 1990).

Para manter a saúde, a função reprodutiva e a capacidade produtiva, fêmeas bovinas necessitam ter adequada quantidade de reservas corporais (Montiel e Ahuja, 2005). Assim, a avaliação do escore de condição corporal (ECC) é uma ferramenta que auxilia no monitoramento da condição nutricional e da reprodução do rebanho, e é tido como a razão entre a quantidade de tecidos gordurosos e de não gordurosos no corpo de um animal vivo (Murray, 1919, citado por Dias, 1991).

Segundo Ferreira et al. (1995; 2000), a maioria dos rebanhos bovinos brasileiros, independente do grupo genético, apresenta nível nutricional inadequado, determinando prolongado

período de inatividade ovariana e, portanto, longo intervalo de partos. A reserva energética no final da gestação, ao parto, e no início da lactação afeta a duração do anestro pós-parto (Beam e Butler, 1999). Também, Ferreira (1995) define como causas do prolongado anestro pós-parto, os seguintes pontos: a) o baixo escore da condição corporal ao parto; e b) a condição corporal regular ou boa ao parto, porém, acompanhada de perda excessiva (balanço energético negativo) no primeiro trimestre pós-parto. O mesmo autor, em 1992, em um estudo realizado com 3408 vacas encontrou 73,1% de vacas em anestro até 90 dias pós-parto, e 54,4% em períodos superiores, sendo essas condições sempre associadas ao baixo ECC. O baixo escore da condição corporal está associado com o longo período para o restabelecimento da atividade ovariana luteal cíclica, com a baixa frequência de pulsos de LH, com a baixa resposta dos folículos às gonadotropinas e com a menor qualidade folicular (Diskin et al., 2003).

Normalmente, a manutenção de elevado plano nutricional, antes do parto, reduz

o intervalo do parto à primeira ovulação, quando comparado com vacas mantidas sob baixo plano nutricional (Wiltbank et al., 1962). Os autores verificaram maior porcentagem de ovulação no parto de vacas recebendo dieta com alta densidade energética no pré-parto, de 65 – 76% aos 50 dias e de 86 – 95% aos 90 dias pós-parto. A restrição de energia durante o período do pré-parto resulta em vacas magras à parição, prolongando o período de anestro e reduzindo o percentual de vacas exibindo estro durante a estação de monta.

O período parto–primeira ovulação relaciona-se com o ponto máximo (*nadir*) do balanço energético negativo (BEN; Beam e Butler (1999)). Esta condição é acompanhada por alterações nas concentrações plasmáticas de hormônio do crescimento (GH), insulina, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1), glicose e ácidos graxos não-esterificados (AGNE), que são indicadores metabólicos da quantidade de energia disponível para metabolismo animal (Bossis et al., 2000). À medida que

transcorre o BEN nota-se aumento da pulsatilidade de LH, aumento do tamanho do folículo dominante e aumento da produção de estradiol. Beam e Butler (1999) descrevem três possíveis padrões de crescimento folicular no pós-parto de vacas leiteiras: 1) ovulação do primeiro folículo dominante (46%); 2) regressão e sucessão ondas foliculares até a primeira ovulação (31%); e 3) desenvolvimento de estrutura cística (23%). Portanto, a duração do anestro pós-parto relaciona-se com o destino do folículo dominante da primeira onda, podendo durar 20 dias na primeira situação, ou 51 dias na segunda (Beam e Butler, 1999). Mudanças nutricionais, a curto e longo prazo, modificam o padrão de secreção de LH e influenciam a taxa de crescimento, o diâmetro, a persistência do folículo dominante e, portanto, a capacidade ovulatória do folículo (Bossis et al., 2000).

A amamentação e presença da cria também contribuem para o aumento do intervalo pós-parto (Williams, 1990; Short et al., 1994). Segundo Griffith e Williams (1996), depois de estabelecido

o reconhecimento da cria, mesmo privando a vaca dos sentidos da visão e/ou olfação, e perpetuando a amamentação de seu próprio bezerro, há inibição da secreção de LH. A amamentação determina aumento na sensibilidade hipotalâmico-hipofisária ao *feedback* negativo ao estradiol. Aliado aos peptídeos opióides endógenos (encefalinas, endorfinas e dinorfinas), reduzem a liberação de GnRH e, como consequência, há diminuição na secreção pulsátil de LH e falhas na ovulação, prolongando o anestro pós-parto (Yavas e Walton, 2000).

Fêmeas que amamentam à vontade; nas submetidas a regime de uma amamentação diária e sem contato visual ou olfativo com os bezerros; nas fêmeas amamentando uma vez por dia e em contato direto com os bezerros; e em vacas que permaneceram o tempo todo com bezerro e sem restrição de mamada verificou-se $0,18 \pm 0,03$, $0,48 \pm 0,06$, $0,21 \pm 0,04$ e $0,23 \pm 0,05$ pulsos de LH/hora, respectivamente (Stagg et al., 1998). Estes autores verificaram que no período anovulatório pós-parto a

interação mãe-cria é mais importante na regulação de secreção de GnRH e na diminuição dos pulsos de LH, do que a amamentação.

O desmame precoce ou a restrição da amamentação são técnicas de manejo que visam encurtar o período de anestro pós-parto, mas, em algumas situações, estes manejos são questionáveis quanto sua eficiência e praticidade, devido às condições do sistema de criação, infraestrutura, e custos de suplementação das crias, embora sejam relatados benefícios quanto ao desempenho reprodutivo das fêmeas submetidas ao desmame de seus bezerros (Galina et al., 2001). Por isso, a adoção de manejos de amamentação está relacionada com o aumento da frequência de pulsos do LH e com o aumento da taxa ovulatória de bovinos (Stagg et al., 1998).

2.3. Estratégias hormonais para antecipar o retorno da atividade ovariana no pós-parto de bovinos

A utilização de protocolos hormonais para a indução e sincronização de estros e ovulações visa, dentre outros objetivos: concentrar estros,

acasalamentos, inseminações artificiais, partos, reduzir mão-de-obra, induzir a ciclicidade em animais em anestro no pós-parto, detectar vacas com problemas reprodutivos, e reduzir o intervalo de partos e o período de serviço (Aller et al., 1996; Bolaños et al., 1997; Cavalieri et al., 1997; Mihm, 1999; Mackey et al., 2000; Nation et al., 2000; Driancourt, 2001; Rhodes et al., 2002; Colazo et al., 2003; Rhodes et al., 2003; Baruselli et al., 2004; Day, 2004; Ruas et al.; 2005; Ayres et al., 2008; Carvalho et al., 2008; Palomares-Naveda et al., 2008).

Dentre estas proposições, pode-se adotar terapias que empregam diversos hormônios, associados ou não com manejos de amamentação, visando reduzir o período de anestro no pós-parto de vacas leiteiras e de corte (De Castro et al., 2006). Assim, para Duffy et al. (2000), a utilização de hormônios em vacas amamentando leva ao maior período de crescimento e dominância folicular, e resulta na ovulação de folículos dominantes do pós-parto, devido ao aumento da frequência de secreção de LH.

O tratamento com progesterona ou progestágeno, em vacas em anestro pós-parto, pode reverter o *feedback* negativo ao GnRH e LH resultante das elevadas concentrações de estradiol de origem placentária; evita ovulações sem sinais externos de estro; proporciona ciclos estrais de duração normal; e aumenta a frequência e amplitude da secreção de LH, determinando na ovulação dos animais tratados (Mackey et al., 2000).

A associação de progesterona e estradiol melhora os resultados dos protocolos hormonais. Esta combinação resulta na supressão do crescimento do maior folículo, presente no dia da colocação do implante de progesterona, seguido pela emergência de nova onda de crescimento folicular sincronizada. Também, aumenta a taxa de ovulação (66 – 89%), principalmente quando associado com aplicação de GnRH ou desmame temporário de vacas Angus, com 25 a 40 dias no pós-parto (Rivera et al., 1998). A associação de progesterona com estradiol aumentou a competência esteroidogênica do folículo, induzindo o pico ovulatório de LH e a ovulação (Baruselli et al., 2004).

A utilização de implante intravaginal de progesterona leva à supressão transitória das concentrações de LH em vacas das raças Jersey e Holandês em anestro pós-parto (12 e 18 dias) e, por conseguinte, leva à regressão de folículos dominantes com diâmetros maiores ou iguais a 9 mm, quando do início do tratamento hormonal (Nation et al., 2000). Além disso, recrutou nova onda (4 a 5 mm de diâmetro), seguida pela presença de um folículo dominante com diâmetro maior que 9 mm, quando da retirada do dispositivo. Todavia, esse aumento não foi seguido de aumento de estradiol plasmático e, por consequência, não houve *feedback* positivo para a onda pré-ovulatória de LH e ovulação. Por isso, os autores sugerem a combinação de progesterona com agentes indutores da ovulação para induzir o retorno à ciclicidade ovariana no pós-parto de bovinos (Nation et al., 2000).

McDougall et al. (1992) realizaram estudo com 34 vacas leiteiras com menos de 30 dias pós-parto, e dividiram os animais em dois grupos: a) grupo I (n=16) – vacas submetidas a implante

intravaginal de progesterona (CIDR), por cinco dias, e aplicação de benzoato de estradiol (BE) dois dias após a remoção do implante; e grupo II (n=18) – dispositivo sem progesterona, por cinco dias, e aplicação de BE dois dias depois da remoção do dispositivo. Os autores demonstraram que 82,4% (13/16) e 38,9% (7/18) das vacas manifestaram estro nos grupos CIDR+BE e BE, respectivamente. Esses resultados indicam a sensibilização do sistema nervoso central após o pré-tratamento com progesterona que, associado à aplicação de BE nos protocolos de sincronização, aumenta a porcentagem de animais manifestando comportamento de estro.

Ayres et al. (2008) avaliaram o efeito da aplicação de benzoato de estradiol, no momento ou 24 horas após a retirada do CIDR, sobre a dinâmica folicular ovariana e a taxa de concepção após inseminação artificial em tempo fixo (48 e 54 horas) em vacas da raça Nelore lactantes (60 a 90 dias pós-parto). Os diâmetros dos folículos dominantes foram de $1,21 \pm 0,06$ e $1,45 \pm 0,07$ cm ($p=0,01$), respectivamente, para vacas

que receberam BE no momento ou 24 horas após a retirada do implante, sem diferença quanto ao diâmetro do folículo ovulatório ($1,46 \pm 0,05$ vs $1,58 \pm 0,04$ cm). O intervalo da aplicação do BE à ovulação foi menor ($59,4 \pm 2,00$ horas) para vacas recebendo BE na retirada do dispositivo, do que nas tratadas após 24 horas ($69,3 \pm 1,67$ horas; $p=0,0008$). As taxas de ovulação (93,3% e 100%) e de gestação (58,7% e 63,2%) não diferiram para os dois tratamentos, respectivamente, o que demonstra a eficácia da associação dos dois esteróides na manipulação hormonal da reprodução de vacas.

Fike et al. (1997) submeteram vacas de corte a protocolos hormonais com progesterona entre 25 e 50 dias pós-parto, sendo: a) dispositivo sem progesterona (sete dias; controle); b) dispositivo com progesterona (sete dias); c) dispositivo sem progesterona (sete dias) + 1 mg de benzoato de estradiol às 24-30 horas após retirada do dispositivo; e d) dispositivo com progesterona (sete dias) + 1 mg de benzoato de estradiol 24-30 horas após a retirada do dispositivo. As taxas de

estros foram de 24% (22/91), 45% (41/92), 55% (47/86) e 78% (73/93), respectivamente. Dos animais que manifestaram estro, 86% (19/22), 98% (40/41), 62% (29/47) e 82% (60/73) ovularam após o tratamento hormonal. Esses resultados indicam que a associação de P4 e BE, no tratamento de vacas em anestro pós-parto, foi efetiva para induzir o estro e a ovulação.

De Castro et al. (2006) utilizaram quatro tratamentos hormonais em vacas

das raças Aberdeen Angus e Hereford, em anestro e aos 70 dias pós-parto: I) vacas amamentando (n=28); II) vacas amamentando + CIDR/BE (n=28); III) vacas desmamadas aos 77 dias pós-parto; IV) vacas desmamadas aos 77 dias pós-parto + CIDR/BE (n=27). Os autores verificaram que a associação de progesterona e estrógeno com o desmame foi efetivo para induzir o retorno à atividade ovariana cíclica das vacas em anestro (tabela 1).

Tabela 1: Intervalo (dias) para a retomada da atividade ovariana cíclica (AOLC) e porcentagem de gestação aos 50 dias após término da estação de monta, de vacas submetidas à associação de terapias hormonais e manejo de amamentação

| Tratamento | Dias para AOLC | % gestação |
|--|-------------------------|-------------------|
| I - Vacas amamentando | 41,5 ± 2,2 ^a | 28,6 ^a |
| II - Vacas amamentando + implante de P4 + BE | 31,3 ± 3,6 ^b | 35,7 ^a |
| III - Vacas desmamadas | 18,6 ± 1,9 ^c | 88,9 ^b |
| IV - Vacas desmamadas + implante de P4 + BE | 12,9 ± 1,8 ^d | 88,9 ^b |

^{a, b} Médias seguidas de letras distintas, na mesma coluna, diferem entre si (P<0,04). P4 = progesterona; BE = benzoato de estradiol. Adaptado de De Castro et al. (2006).

2.4. Relação do diâmetro do folículo dominante ao início do protocolo com progesterona e a capacidade ovulatória de bovinos

Mesmo após o tratamento com progesterona e estrógeno, determinada porcentagem de animais não ovula. Isto se deve à ausência de um folículo dominante responsivo aos sinais pré-

ovulatórios no momento da indução, ou então, devido a não maturação do folículo dominante oriundo do tratamento hormonal (Burke et al., 2001). Para estes autores, a maturidade e o diâmetro do folículo dominante, no dia da retirada do implante de progesterona, são importantes na

determinação do potencial ovulatório e desenvolvimento luteal em vacas da raça Holandês, lactantes e em anestro. Nesse estudo 50% das fêmeas com folículo com diâmetro de $9,0 \pm 0,6$ mm ovularam, contra 100% das fêmeas com diâmetro folicular de $13,8 \pm 0,4$ mm.

Sartori et al. (1998; 2001), trabalhando com vacas em lactação da raça Holandês, verificaram que nenhum folículo dominante com diâmetro de 7 – 8,5 mm ou < 10 mm tiveram capacidade de ovular, quando submetidos à aplicação de 4, 24 ou 40 mg de LH. Entretanto, 75% dos folículos de 10 mm e 100% daqueles com diâmetro ≥ 12 mm ovularam para as dosagens de 40 e 4 mg, respectivamente. Tais resultados demonstram que em *Bos taurus taurus* a capacidade ovulatória dos folículos dominantes é aumentada quando o diâmetro possui diâmetro superior a 10 mm.

Gimenes et al. (2008), trabalhando com novilhas *Bos taurus indicus* (Nelore, Gir e cruzadas Nelore x Gir) tratadas com 25 mg de LH, demonstraram diferença na capacidade ovulatória de folículos de

diferentes diâmetros. Essa capacidade foi definida como o diâmetro mínimo do folículo dominante capaz de responder ao agente indutor de ovulação. Nesse estudo obteve-se 90%, 80% e 33% de ovulação dos folículos dominantes com diâmetro superior a 10 mm, entre 8,5 e 10 mm, e de 7,0 a 8,4 mm, respectivamente.

Neste sentido, ao se trabalhar com vacas possuindo folículos dominantes de maior diâmetro, a probabilidade de resposta positiva ao tratamento hormonal com progesterona e estrógeno também aumenta. Vacas da raça Gir Leiteiro, ciclando regularmente, apresentam folículos dominantes ovulatórios com diâmetros variando entre $12,8 \pm 1,4$ mm e $15,0 \pm 1,4$ mm, para ciclos estrais com três e duas ondas foliculares, respectivamente (Borges, 2001). Como os folículos ovulatórios de zebuínos possuem menor diâmetro que os de taurinos (Figueiredo et al., 1995), a probabilidade de ovulação poderia ser incrementada em animais com folículos de maiores diâmetros, quando do início do tratamento hormonal (Gimenes et al., 2008).

3. Material e Métodos

3.1. Local, caracterização dos animais e formação dos grupos experimentais

O experimento foi realizado entre os dias 15 de janeiro a 26 de março de 2009 na Fazenda Canoas (Luz, Minas Gerais), localizada na [latitude](#) 19°48'05" S, [longitude](#) 45°41'08" W e altitude de 675 metros. A pluviosidade média durante esse período foi de 880 mm (<http://www.inmet.gov.br/sonabra/iframe.php?codEst=A536&mesAno=2008>, Estação de Dores do Indaiá, MG).

Foram selecionadas, após exame ginecológico, 100 vacas da raça Gir Leiteiro em anestro e com média de $66,1 \pm 24,5$ dias pós-parto. O anestro foi confirmado pela ausência de corpo lúteo ou tecido luteal, avaliado por meio de palpação e ultra-sonografia transretal (ALOKA SSD500, transdutor linear de 5MHz). As fêmeas foram mantidas em pastagens formadas de *Brachiaria decumbens*, com suplementação mineral e água à vontade, e manejadas em regime de duas amamentações diárias (manhã e tarde). A avaliação do escore de condição corporal foi feito de modo

visual, seguindo a metodologia proposta por Ruas (1998).

As vacas foram agrupadas em quatro grupos experimentais (T1, T2, T3 e T4) constituídos por 25 animais, a partir de avaliação ultra-sonográfica e mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo presente em um dos ovários no dia do início do experimento (dia 0), como descrito a seguir:

- T1 = vacas apresentando folículo dominante de diâmetro inferior a 10 mm e não submetidas a protocolo hormonal com progesterona e estradiol;
- T2 = vacas apresentando folículo dominante de diâmetro inferior a 10 mm e submetidas a protocolo hormonal à base da inserção de dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona (CIDR[®] - Pfizer, Brasil), associado à aplicação intramuscular de 1,0 mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin[®] - Farmavet, Brasil) no dia 0 (início do tratamento). O implante foi mantido por oito dias e na sua retirada aplicou-se 1,0 mg de

Cipionato de Estradiol (ECP[®] - Pfizer, Brasil), via intramuscular.

T3 = vacas apresentando folículo dominante de diâmetro maior ou igual a 10 mm e não submetidas a protocolo hormonal com progesterona e estradiol;

T4 = vacas apresentando folículo dominante de diâmetro maior ou igual a 10 mm e submetidas a protocolo hormonal à base da inserção de dispositivo intravaginal de 1,9 g de progesterona (CIDR[®] - Pfizer, Brasil), associado à aplicação

intramuscular de 1,0 mg de Benzoato de Estradiol (Estrogin[®] - Farmavet, Brasil) no dia 0 (início do tratamento). O implante foi mantido por oito dias e na sua retirada aplicou-se 1,0 mg de Cipionato de Estradiol (ECP[®] - Pfizer, Brasil), via intramuscular.

Na tabela 2 são descritos os diâmetros dos folículos dominantes, as idades, ordens de parto e o dias pós-parto, de acordo com cada grupo experimental.

Tabela 2: Diâmetro (mm) do maior folículo ovariano no primeiro dia da implantação dos tratamentos hormonais, médias de idade, ordem de parto e dias pós-parto de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro, para os diferentes grupos experimentais

| Tratamentos | Diâmetro folicular (mm) | Idade (anos) | Ordem de parto | Dias pós-parto |
|---------------------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| T1 - Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 7,7 ± 1,4 ^b | 7,1 ± 3,6 ^a | 3,8 ± 2,3 ^a | 62,8 ± 23,2 ^a |
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 7,9 ± 1,7 ^b | 6,7 ± 3,2 ^a | 3,9 ± 2,5 ^a | 70,4 ± 23,1 ^a |
| T3 - Folículo ≥ 10mm sem P4+E2 (n=25) | 10,8 ± 1,0 ^a | 6,8 ± 2,5 ^a | 4,2 ± 2,1 ^a | 65,8 ± 25,8 ^a |
| T4 - Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 10,8 ± 0,9 ^a | 8,4 ± 4,7 ^a | 5,5 ± 3,3 ^a | 65,3 ± 26,4 ^a |
| Média ± s | - | 7,2 ± 3,8 | 4,4 ± 2,6 | 66,1 ± 24,5 |
| CV (%) | 13,97 | 51,7 | 59,2 | 37,4 |

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

3.2. Detecção do estro e inseminações artificiais

A detecção do estro foi monitorada visualmente duas vezes ao dia (07:00 e 18:00 horas), durante uma hora, com

auxílio de rufião preparado por aderência peniana (proporção touro:vaca de 1:25), independente do tratamento. As inseminações artificiais foram realizadas 12 horas após a

detecção do estro, utilizando-se sêmen de qualidade comprovada. Aqueles animais que apresentaram repetição de estro foram reinseminados de acordo com manejo da propriedade.

3.3. Avaliações ginecológicas e ultrasonográficas posteriores

Posteriormente à implementação dos diferentes grupos experimentais (dia 0), foram realizadas seis avaliações ginecológicas (palpação e ultrasonografia transretal), registrando-se:

- **Dia 8 (dia da retirada do dispositivo de progesterona):** mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais dos grupos experimentais; da área (cm²) e volume (cm³) de corpos lúteos das fêmeas que eventualmente ovularam nos T1 e T3;
- **Dia 16 (confirmação da ovulação após o protocolo hormonal):** mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais dos grupos experimentais; confirmação da presença do corpo lúteo e/ou tecido luteal (área e

volume) das vacas de T2 e T4, além dessas estruturas nas vacas de T1 e T3 que ovularam;

- **Dia 29 (verificação da manutenção ou não do corpo lúteo):** mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais dos grupos experimentais; da área (cm²) e volume (cm³) do corpo lúteo e/ou tecido luteal das vacas de T2 e T4, além dessas estruturas das vacas de T1 e T3 que ovularam;
- **Dia 43 (diagnóstico de gestação aos 30 dias após a inseminação artificial):** mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais dos grupos experimentais; da área (cm²) e volume (cm³) do corpo lúteo e/ou tecido luteal, diagnóstico de gestação das vacas de T2 e T4, além dessas estruturas das vacas de T1 e T3 que ovularam e se tornaram gestantes;
- **Dia 57 (diagnóstico de gestação aos 45 dias após a inseminação artificial):** mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais dos grupos experimentais; da área (cm²) e volume (cm³) do

corpo lúteo e/ou tecido luteal, confirmação da gestação nas vacas de T2 e T4, além dessas estruturas das vacas de T1 e T3 que ovularam e se tornaram gestantes;

- **Dia 72 (diagnóstico de gestação aos 60 dias após a inseminação artificial):** mensuração do diâmetro (mm) do maior folículo de todos os animais dos grupos experimentais; da área (cm²) e volume (cm³) do corpo lúteo e/ou tecido luteal, diagnóstico de gestação nas vacas de T2 e T4, além dessas estruturas das vacas de T1 e T3, que ovularam e se tornaram gestantes.

3.4. Coletas de sangue e dosagem de progesterona

Juntamente com as avaliações dos dias D0, D16, D29, D43 e D57 foram realizadas coleta de sangue, em tubos vacuolizados contendo solução anti-coagulante (EDTA). Os tubos foram centrifugados a 3000 rpm (1600 g), logo após a coleta, durante 15 minutos, para a separação do plasma sanguíneo, que foi estocado a - 20°C até sua análise.

A dosagem de progesterona foi realizada no Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (ICB/UFMG), através da metodologia de radioimunoensaio (RIE) utilizando-se *kits* comerciais (Progesterone Maia Kit – Adaltis – Itália – www.adaltis.com).

3.5. Análises Estatísticas

Os animais apresentando folículos das duas classes de diâmetros foliculares (maiores ou menores que 10mm) foram distribuídos segundo um delineamento inteiramente casualizado. Na análise estatística utilizou-se o programa SAEG 9.0, aplicando-se análise de variância para as medidas foliculares (diâmetro) e luteais (área e volume), idade, dias pós-parto, ordem de parto e período de serviço, sendo que as diferenças entre tratamentos foram comparadas pelo teste de médias de Student Newman Keuls (SNK) a 5% de probabilidade. O escore de condição corporal e o intervalo da retirada do implante de progesterona ao estro foram analisados pelo teste não paramétrico de Mann-

Whitney. As taxas de manifestação de estro, ovulação e gestação foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado, utilizando pacote estatístico GraphPad Instat 3. Ainda, os parâmetros luteais (área e volume) e concentrações plasmáticas de progesterona, na confirmação da ovulação, foram submetidos à transformação logarítmica. A porcentagem de retorno à ciclicidade das vacas não gestantes foi discutida de forma descritiva devido ao pequeno número de observações.

4. Resultados e Discussão

4.1. Escore de condição corporal (ECC) e diâmetro do folículo dominante ao início e término dos tratamentos hormonais (T2 e T4) ou no período equivalente (T1 e T3)

O escore de condição corporal (ECC) não diferiu ($P > 0,05$) entre os animais apresentando as duas classes de diâmetro folicular (< 10 mm ou ≥ 10 mm). Contudo houve diferença ($P < 0,05$) no ECC entre os animais dos grupos experimentais T1 e T3, T1 e T4, e T2 e T4 (tabela 3).

Tabela 3: Escore de condição corporal (ECC) e diâmetro do folículo dominante ao início e fim dos tratamentos hormonais com progesterona e estrógeno, de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto

| Tratamentos | ECC (1-5) | Diâmetro folicular inicial (mm) | Diâmetro folicular final (mm) |
|---------------------------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| T1 - Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 3,2 ± 0,4 ^x | 7,7 ± 1,4 ^a | 10,1 ± 2,0 ^{ab} |
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 3,3 ± 0,4 ^{xy} | 7,9 ± 1,7 ^a | 9,5 ± 2,3 ^b |
| T3 - Folículo ≥ 10mm sem P4+E2 (n=25) | 3,5 ± 0,5 ^{yz} | 10,8 ± 1,0 ^b | 11,1 ± 2,5 ^a |
| T4 - Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 3,5 ± 0,4 ^z | 10,8 ± 0,9 ^b | 11,3 ± 1,9 ^a |
| CV (%) | | 13,9 | 21,0 |

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

^{x,y,z} Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna, diferem ($P < 0,05$) entre si pelo teste de Mann-Whitney.

Também, verificou-se menor ($P < 0,05$) diâmetro folicular para os animais do tratamento T2 ($9,5 \pm 2,3$ mm), em relação aos dos T3 ($11,1 \pm 2,5$ mm) e

T4 ($11,3 \pm 1,9$ mm), no dia da retirada do implante de progesterona.

A diferença no diâmetro folicular inicial, quando da implementação dos

grupos experimentais, pode ser reflexo, dentre outros fatores, da diferença na condição corporal dos animais. Estudos demonstram que as vacas de maior escore de condição corporal apresentam melhor desempenho reprodutivo no pós-parto. A nutrição, o escore de condição corporal (ECC) ao parto, a presença da cria e a amamentação contribuem aditivamente na velocidade para o restabelecimento dos estoques e da secreção de LH (Williams, 1990) e, conseqüentemente, com o diâmetro folicular e com a capacidade dos animais ovularem no pós-parto.

A condição corporal ao parto e com a intensidade de perda de escore corporal e peso vivo, nos primeiros 30 dias de lactação, está relacionada com o potencial ovulatório e capacidade de retorno à atividade ovariana no pós-parto de vacas leiteiras. Neste sentido, Diskin et al. (2003) reportaram que a probabilidade ovulatória do folículo dominante é menor que 20% quando seu diâmetro máximo é inferior a 9 mm. A maior mobilização das reservas corporais pode ampliar o intervalo do parto ao primeiro estro e ovulação,

reduzindo as taxas de concepção e de prenhez, além de causar anestro (Williams, 2001). Vacas perdendo menos de 0,5; de 0,5 a 1,0 e mais de 1,0 unidade de escore ovularam, em média, aos 30, 36 e 50 dias de pós-parto, respectivamente (Butler, 2005). Para este mesmo autor, a taxa de concepção diminui 10% para cada 0,5 unidade de escore corporal que é perdida.

Para Bossis et al. (2000), as vacas de melhor escore corporal podem atender melhor suas exigências de lactação e, também, apresentam menor sensibilidade do hipotálamo ao *feedback* negativo do estradiol, aumentando gradativamente as concentrações sanguíneas de LH, insulina e IGF-I. Ao contrário, vacas de corte em anestro no pós-parto possuem menores concentrações plasmáticas de insulina e, por isso, são incapazes de ovular, mesmo em resposta à restrição da amamentação (Sinclair et al., 2002). Estes metabólitos e hormônios estimulam diretamente a capacidade esteroidogênica folicular, e apresentam importante função na seleção e estabelecimento de dominância folicular

(Bossis et al., 2000). À medida que transcorre o período pós-parto, os estoques de LH hipofisários vão sendo restabelecidos, a concentração plasmática e a frequência de pulsos de LH aumentam linearmente e verifica-se que, a cada onda folicular, a taxa de crescimento, o diâmetro máximo e a persistência do folículo dominante vão se tornando cada vez maiores, até que ocorra a ovulação (Jolly et al., 1995). A melhor condição metabólica é acompanhada pelo aumento gradativo do diâmetro do folículo dominante (Sá Filho e Vasconcelos, 2008), tal como verificado nas fêmeas dos tratamentos T3 e T4.

No presente estudo não foram mensurados hormônios metabólicos, mas acredita-se que o menor ECC das fêmeas do T1 e T2 possa resultar na baixa frequência de pulsos de LH, e em menores concentrações de insulina e IGF-I que influenciariam a taxa de crescimento, o diâmetro e a persistência do folículo dominante (Bossis et al., 2000).

A premissa para a formação dos grupos experimentais foi a separação dos animais segundo duas classes de diâmetro folicular (maior ou menor que 10mm). Também, deve-se considerar que as vacas estavam em anestro, segundo um mesmo manejo nutricional e de amamentação, e não apresentavam diferença ($P>0,05$) quanto à idade, ordem de parto e dias pós-parto (tabela 2), demonstrando que houve distribuição homogênea dos animais entre os quatro grupos experimentais.

Segundo Gimenes et al. (2008), vacas das raças Gir e Nelore apresentaram maior capacidade ovulatória quando os folículos dominantes atingem diâmetros maiores que 10mm. Todavia, no presente estudo, nenhum animal havia manifestado estro ou apresentado corpo lúteo até os $66,1 \pm 24,5$ dias de pós-parto, quando do início da experimentação. Da mesma forma, Borges et al. (2004) não verificaram estro e ovulação nos primeiros 50 dias do pós-parto de vacas da raça Gir Leiteiro.

O anestro pós-parto é caracterizado pela emergência e divergência de sucessivas ondas foliculares. Entretanto, após divergência, o folículo apresenta menor taxa de crescimento e baixa capacidade de produzir estradiol, que é insuficiente para induzir pico ovulatório de LH (Mihm, 1999). Logo, ocorre perda da dominância, inicia-se a regressão folicular e há emergência de nova onda folicular (Wiltbank et al., 2002). Dessa forma, verifica-se várias ondas foliculares até que ocorra a primeira ovulação pós-parto (McDougall et al., 1995).

Apesar dos animais dos tratamentos T3 e T4 apresentarem folículos de maiores diâmetros, compatíveis com ovulações como descrito por Gimenes et al. (2008), nenhuma ovulação foi verificada. Sabe-se que vacas com folículo dominante de maior diâmetro possuem maiores concentrações de LH. Todavia, no presente caso, devem existir efeitos negativos e aditivos da lactação e da presença da cria (Williams, 1990) sobre as concentrações sanguíneas de estradiol e da frequência de pulsos de GnRH e LH

(Edwards, 1985) para todos os tratamentos, a ponto de impossibilitar a ovulação. Esta somente ocorrerá quando a frequência de pulsos de LH for suficiente para estimular a produção máxima de estradiol, a ponto de desencadear o pico pré-ovulatório de LH (Roche et al., 1992). Dentro destes fatos, buscou-se utilizar implantes intravaginais de progesterona e estradiol com o objetivo de promover *feedback* negativo à secreção de LH e FSH hipofisários, favorecendo sua estocagem nesta glândula a ponto de, quando da retirada do dispositivo após oito dias, venha estar em concentrações suficientes para ser liberada a ponto de induzir a ovulação de um folículo dominante resultante de nova onda folicular surgida após quatro dias da colocação do implante (Bó et al., 1993).

Quanto às vacas submetidas ao protocolo hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4), verificou-se que o diâmetro do folículo dominante, ao término do protocolo, foi inferior ao descrito por Ayres et al. (2008) em vacas da raça Nelore. Estes últimos relatam diâmetros dos folículos

dominantes de $12,1 \pm 0,6$ mm no momento da retirada do dispositivo de progesterona. No presente estudo, o diâmetro do folículo dominante foi de $9,5 \pm 2,3$ mm e $11,3 \pm 1,9$ mm para T2 e T4, respectivamente, semelhante ao encontrado por Colazo et al. (2003), de $10,8 \pm 2,8$ mm. Estes autores utilizaram CIDR por oito dias, porém, quando o implante foi mantido por nove dias, o diâmetro do folículo dominante foi de $12,8 \pm 2,8$ mm. O tratamento hormonal (CIDR) de vacas em anestro proporciona concentrações sub-luteais de progesterona, o que permite o desenvolvimento de folículo dominante de maior diâmetro ao final do protocolo (Mihm et al., 1999), principalmente quando o dispositivo for mantido por maior número de dias, tal como verificado por Colazo et al. (2003) e Ayres et al. (2008).

Também, deve-se considerar que vacas cíclicas de diferentes raças, mesmo entre as zebuínas, apresentam folículos dominantes ovulatórios de diâmetros variáveis. Borges (2001), Fonseca (2000) e Figueiredo et al. (1995, 1997) verificaram folículos dominantes com

diâmetros de 12,8 a 15 mm, 11,4 a 16,2mm e de $11,6 \pm 0,2$ a $12,1 \pm 0,3$ mm para vacas das raças Gir Leiteiro, Guzerá e Nelore, respectivamente. Estes diâmetros dos folículos dominantes são inferiores ao encontrado em vacas de raças européias, de 15 a 20 mm (SAVIO et al., 1988). Logo, pelas medidas foliculares acima reportadas para vacas cíclicas, pode-se reforçar a hipótese de que vacas das raças Gir apresentarem maior capacidade ovulatória quando os folículos dominantes atingem diâmetros maiores que 10 mm (Gimenes et al., 2008).

4.2. Taxa de manifestação de estro e intervalo da retirada do implante de progesterona à manifestação do estro

Após o protocolo com progesterona e estrógeno, 100% (25/25) dos animais de T2 e 100% (25/25) de T4 manifestaram estro e foram inseminados, e um animal de T4 não foi inseminado devido à não transposição do cérvix. No mesmo período, 4% (1/25) das fêmeas de T1 e 4% (1/25) de T3 manifestaram estro e foram inseminadas, o que diferiu ($P < 0,05$) dos tratamentos T2 e T4 (tabela 4).

A taxa de manifestação de estro foi igual aos 100% (50/50) encontrado por Oliveira et al. (2003); superior aos 49% (19/39) de Bolaños et al. (1997), aos 59,1% (13/22) de Palomares-Naveda et

al. (2008), 75,8% (22/29) de Borges e Gregory (2003), e de 85% (17/20) com CRESTAR e 68% (17/25) com CIDR encontrado por Aller et al. (1996).

Tabela 4: Taxa de manifestação de estro (%) de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, no período equivalente ao término do protocolo hormonal com progesterona e estradiol

| Tratamento | Estro |
|---|---------------------------|
| T1 - Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 4% (1/25) ^a |
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 100% (25/25) ^b |
| T3 - Folículo ≥ 10mm sem P4+E2 (n=25) | 4% (1/25) ^a |
| T4 - Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 100% (25/25) ^b |

^{ab}Valores percentuais seguidos de letras distintas, diferem (P<0,05) entre si pelo teste do qui-quadrado.

A alta porcentagem de manifestação de estro ocorre devido à redução nas concentrações sanguíneas de progesterona (retirada do implante), associada à elevação da concentração de estrógeno proveniente tanto do folículo dominante quanto da injeção de cipionato de estradiol (ECP), ao final do protocolo hormonal. O ECP é um éster de estradiol com baixa solubilidade em água, apresentando liberação mais lenta do local de injeção e maior meia-vida plasmática, o que possibilita concentrações sanguíneas elevadas. A aplicação do ECP, no momento da retirada do CIDR, é eficiente para sincronizar o pico ovulatório de LH e a

ovulação (Colazo et al., 2003), elevando as taxas de concepção e de gestação, principalmente nas inseminações artificiais precedidas de manifestação de estro (Pancarci et al., 2002).

Na tabela 5 estão apresentados os intervalos médios da retirada do dispositivo de progesterona ao estro de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto. Verificou-se menor intervalo (P<0,05) para a manifestação de estro nas vacas do T4 (36,68 ± 7,85 horas), em relação às do T2 (41,64 ± 5,14 horas).

Tabela 5: Intervalo (horas) da retirada do implante de progesterona (CIDR) à detecção de estro de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto

| Tratamento | Intervalo (horas) |
|---|-------------------------|
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 41,6 ± 5,1 ^a |
| T4 - Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 36,7 ± 7,9 ^b |

^{ab}Médias seguidas de letras distintas diferem (P<0,05) entre si pelo teste de Mann-Whitney.

O menor intervalo (P<0,05) da retirada do CIDR ao estro nas vacas do T4 pode ser explicado pelo maior (P<0,05) diâmetro (11,3 ± 1,9 mm vs. 9,5 ± 2,3 mm) dos folículos dominantes destas fêmeas, quando do término do tratamento hormonal. O maior diâmetro folicular pode ser resultante da maior taxa de crescimento folicular e do melhor escore corporal das vacas de T4 (3,5 vs. 3,3, P<0,05). Animais de melhor escore corporal possuem maior frequência de pulsos LH/h (Diskin et al., 2003; Yavas e Walton, 2000) e, também, maiores concentrações circulantes de IGF-I (Diskin et al., 2001). Estas características são responsáveis pelo aumento das concentrações de LH, visto que estimulam a proliferação e responsividade das células foliculares ao LH que, por sua vez aumentam a produção substratos (androstenediona) necessários à produção de estradiol, via maior atividade da enzima aromatase

(Spicer e Echtenkamp, 1995), que é pré-requisito para a ocorrência da ovulação.

4.3 .Taxa de ovulação, área e volume dos corpos lúteos e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) a tratamento hormonal com progesterona e estradiol

A tabela 6 contém a taxa ovulatória, a área e o volume dos corpos lúteos, e as concentrações plasmáticas de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas ou não a protocolo hormonal com progesterona e estradiol. Verificou-se 60% (15/25) e 88% (22/25) de ovulação para os animais de T2 e T4 (P<0,05), respectivamente, após a terapia hormonal. Também, na mesma tabela estão apresentados os percentuais de animais dos tratamentos de T1 (16%; 4/25) e T3 (28%; 7/25) que ovularam espontaneamente até a data da confirmação da ovulação dos animais

submetidos ao protocolo hormonal, e cujos resultados foram inferiores ($P < 0,05$) aos das fêmeas do T2 e T4.

A área e o volume luteal, sete dias após a indução do estro, são menores que os descritos por Borges et al. (2003) com vacas da raça Gir Leiteiro, porém, com animais ciclando regularmente (2,8 a

4,8 cm^2 e 3,2 a 5,2 cm^3). Alves (2008) encontrou área de $3,2 \pm 1,0 \text{ cm}^2$ para corpos lúteos de vacas leiteiras mestiças Holandês X Zebu, em anestro pós-parto e, também, submetidas à indução de ovulação com o mesmo protocolo hormonal utilizado no presente experimento.

Tabela 6: Taxas de ovulação, características luteais e concentrações plasmáticas de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) a tratamento com progesterona e estradiol

| Tratamento | % de ovulação | Área do corpo lúteo (cm^2)* | Volume do corpo lúteo (cm^3)* | Concentração progesterona (ng/mL)* |
|--|--------------------------|--|--|------------------------------------|
| T1 - Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 16% (4/25) ^a | $1,6 \pm 0,8$ | $1,4 \pm 0,8$ | $2,3 \pm 1,4$ |
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 60% (15/25) ^b | $1,8 \pm 0,8$ | $1,6 \pm 0,9$ | $1,9 \pm 1,5$ |
| T3 - Folículo \geq 10mm sem P4+E2 (n=25) | 28% (7/25) ^a | $2,1 \pm 1,3$ | $2,5 \pm 0,2$ | $2,3 \pm 1,2$ |
| T4 - Folículo \geq 10mm com P4+E2 (n=25) | 88% (22/25) ^c | $2,2 \pm 0,6$ | $2,1 \pm 0,9$ | $3,2 \pm 1,9$ |

^{a,b}Médias seguidas de letras distintas diferem ($P < 0,05$) pelo teste do qui-quadrado.

* ($P > 0,05$) pelo teste de Student Newman Keuls.

Apesar dos valores encontrados para menores medidas dos corpos lúteos resultantes de ovulação induzida, os mesmos apresentaram funcionalidade normal verificada pelas concentrações plasmáticas de progesterona acima de 1,0 ng/mL, decorridos oito dias do estro. Os valores de progesterona variaram de $1,9 \pm 1,5 \text{ ng/mL}$ (fêmeas do T2) a $3,2 \pm 1,9 \text{ ng/mL}$ (fêmeas do T4), sendo semelhantes às concentrações de

$2,8 \pm 1,5 \text{ ng/mL}$ e de $5,1 \pm 1,7 \text{ ng/mL}$ encontrados por Mucciolo e Barberio (1983) e Borges (2001), respectivamente, também em estudos com vacas da raça Gir Leiteiro.

Bolaños et al. (1997) verificaram 90% e 55,6% de ovulação em vacas tratadas com progestágenos, seguida ou não por desmame temporário, respectivamente. Os valores assemelham-se ao do

presente trabalho. Ayres et al. (2008) encontraram taxas de ovulação superiores (93,3%) em vacas da raça Nelore lactantes, aos 60-90 dias pós-parto. Já, Borges e Gregory (2003) relataram taxas de ovulação de 48,2% e 15,7% para vacas em anestro, tratadas com norgestomet e desmamadas temporariamente ou para o grupo controle, respectivamente. Entretanto, estes trabalhos não reportam o diâmetro do folículo dominante ao início dos tratamentos.

Borges et al. (2008) obtiveram 93,8% e 81,8% de ovulação em vacas mestiças primíparas leiteiras F1 Holandês x Zebu, usando o mesmo protocolo utilizado nesse trabalho, a partir de folículos dominantes de $12,6 \pm 2,1$ e $13,3 \pm 2,3$ mm ao início do protocolo, nas estações seca e chuvosa, respectivamente.

Carvalho et al. (2007) reportaram taxas de ovulação de 71,9% em vacas leiteiras mestiças Holandês x Zebu em anestro, aos 30 dias pós-parto, e apresentando folículo dominante de $14,0 \pm 2,1$ mm no início do mesmo protocolo hormonal

utilizado no presente estudo. Estes resultados indicam que a capacidade ovulatória pode ser maior em animais que possuem folículos dominantes de maior diâmetro, ao início do protocolo hormonal.

Para Rhodes et al. (2003), o tratamento com progesterona estimula o desenvolvimento e a maturação final do folículo dominante de vacas em anestro, por aumentar secreção de LH e estimular expressão de receptores de LH nas células foliculares. A utilização de protocolos com progesterona e estradiol no pós-parto de vacas zebu, em anestro e amamentando (Bolaños et al., 1997), é eficiente em manter o crescimento e a maturação folicular, o pico ovulatório de LH, a ovulação, e a formação de corpo lúteo de função e duração normais (Lucy et al., 2001). A associação desses hormônios, no início do tratamento, promove a regressão do folículo dominante e determina emergência de uma nova onda folicular após $4,3 \pm 0,2$ dias, que é capaz de gerar um folículo dominante de boa qualidade, e prevenindo a formação de

um folículo persistente e de baixa fertilidade (Bó et al., 2003).

Segundo Burke et al. (2001), após a indução do estro e da ovulação de vacas de corte européias, alguns animais falham em ovular devido a ausência de um folículo dominante responsivo aos sinais pré-ovulatórios no momento da indução, ou pela ausência de um folículo dominante maduro, após o tratamento hormonal. Assim, a menor ($P < 0,05$) porcentagem de ovulação (60%) nas fêmeas do T2 pode ser explicada pelo menor diâmetro folicular ($9,5 \pm 2,3$ mm) ao final do tratamento com progesterona e estradiol (tabela 3). Ainda, de acordo com Burke et al.

(2001), 50% das fêmeas que possuíam folículo de diâmetro de $9,0 \pm 0,6$ mm ovularam, contra 100% daquelas cujo folículo possuía diâmetro de $13,8 \pm 0,4$ mm ao final do protocolo hormonal com progesterona e estradiol.

No presente estudo, embora um número significativo de fêmeas tenha ovulado a partir do protocolo hormonal, nem todas se tornaram gestantes com o diagnóstico realizado 30 dias após a inseminação artificial (tabela 7). Não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os grupos, porém, houve superioridade numérica de fêmeas do T4 para as taxas de ovulação e de gestação, em relação aos demais grupos experimentais.

Tabela 7: Número de vacas gestantes após 30 dias das inseminações artificiais, em relação ao número de animais ovulados, para os grupos submetidos à terapia hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4), ou no período correspondente para os demais grupos experimentais (T1 e T3)

| Tratamento | Total de Ovulações | Número de vacas gestantes |
|--|--------------------|---------------------------|
| T1 - Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 4 | 0 (0,0%) |
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 15 | 5 (33,3%) |
| T3 - Folículo \geq 10mm sem P4+E2 (n=25) | 7 | 2 (28,6%) |
| T4 - Folículo \geq 10mm com P4+E2 (n=25) | 22 | 13 (59,1%) |

($P > 0,05$) pelo teste exato de Fisher

As fêmeas do tratamento 4 apresentaram melhor resposta em gestação, uma vez que das 22 vacas que

ovularam após o tratamento com progesterona e estradiol, 13 (59,1%) se tornaram gestantes em relação aos

33,3% (5/15) do tratamento 2 (tabela 7). O número de vacas não ovuladas foi de 10 (40,0%) e três (12,0%), para os tratamentos T2 e T4, respectivamente.

A tabela 8 apresenta o número de vacas que, após ovularem ao protocolo

hormonal e que não se tornaram gestantes, retornaram ao anestro ou à atividade ovariana cíclica, num período de 30 dias após as inseminações artificiais.

Tabela 8: Número de animais não gestantes que retornaram à ciclicidade ou ao anestro, após a utilização de protocolo hormonal com progesterona e estradiol

| Tratamento | Não ovuladas | Ovuladas sem gestação | |
|---|--------------|--------------------------|-----------------------|
| | | Retornaram à Ciclicidade | Retornaram ao anestro |
| T2 - Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 10 | 2 (20,0%) | 8 (80,0%) |
| T4 - Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 3 | 6 (66,7%) | 3 (34,3%) |

(P>0,05) pelo teste exato de Fisher

Para o tratamento T4, do total de animais que ovulou e não ficou gestante (n=9), 66,7% (6/9) mantiveram a ciclicidade e 34,3% (3/9) retornaram ao anestro. Já para o T2 (n=10), 80,0% (n=8) e 20,0% (n=2) retornaram ao anestro ou mantiveram a ciclicidade, respectivamente. Para os demais tratamentos (T1 e T3), do total de animais que ovularam espontaneamente (4/25 e 7/25), um animal de cada grupo voltou à condição de anestro, no mesmo período de avaliação. O total de fêmeas que mantiveram a condição de anestro

foi de 18 (72,0%) e 6 (24,0%), respectivamente para T2 e T4.

Apesar do menor número (P<0,05) de vacas ovuladas nos tratamentos T1 (4/25; 16%) e no T3 (7/25; 28%), ao longo do período experimental (tabela 6), verificou-se que 75% (3/4) e 80% (4/5) não se tornaram gestantes, mas permaneceram ciclando ao longo das avaliações. Estes resultados indicam que, uma vez havendo condições adequadas, os animais recuperam a função reprodutiva pós-parto, com restabelecimento da normalidade do

eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal, a ponto de promover crescimento folicular ovariano seguido de ovulações.

Já, das fêmeas do T2 que ovularam (n=15) após protocolo hormonal e que não se tornaram gestantes (10/15), 20% (n=2) retomaram a ciclicidade ovariana.

Borges et al. (2004) estudaram a capacidade ovulatória à gonadotropina coriônica humana (hCG) ou GnRH em vacas da raça Gir Leiteiro em anestros pós-parto (50 dias), possuindo folículos dominantes com diâmetro médio de $8,4 \pm 2,6$ cm e $8,0 \pm 2,3$ cm, respectivamente, no dia do tratamento hormonal. Após a ovulação ou luteinização folicular, as concentrações plasmáticas máximas de progesterona foram menores ou iguais a 1 ng/mL e, após a regressão do tecido luteal, os animais não retornaram à ciclicidade ovariana. Provavelmente, os menores diâmetros foliculares, o reduzido tamanho dos corpos lúteos ($1,9 \pm 0,4$ e $1,7 \pm 0,6$ cm²) e as baixas concentrações de progesterona ($0,8 \pm 0,5$ ng/mL) demonstrem a baixa capacidade ovulatória destes animais. Folículos

dominantes de menor diâmetro possuem, normalmente, menor capacidade de produção de estradiol e, portanto, menor atividade das células da granulosa (Diskin et al., 2001). Estes fatores podem estar relacionados com corpos lúteos de menor tamanho e com menor capacidade de síntese de progesterona, que não foram suficientes para restabelecerem os estoques hipofisários e o padrão de secreção de LH, necessários para induzir a maturação final e a ovulação de novos folículos dominantes.

As taxas de gestação aos 30 dias após o protocolo hormonal (Tabela 9) foram de 52% (13/25) para os animais do grupo T4 e de 20% (5/25) para o grupo T2 ($P < 0,05$). Para os demais grupos (T1 e T3), não submetidos ao tratamento hormonal, os resultados foram de 0% (0/25) e 16% (4/25), respectivamente. Verificou-se diferença estatística ($P < 0,05$) para a taxa de gestação dos animais do grupo T4 (Tabela 9). Para Diskin et al. (2001, 2003) e Bossis et al. (2000), animais em balanço energético negativo, em anestros nutricional ou lactacional apresentam folículos

dominantes de menor diâmetro e com menor persistência, associado com menores concentrações sanguíneas de estradiol e com menor frequência de

pulsos de LH, limitantes para que ocorra o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação.

Tabela 9: Taxas de gestação aos 30 dias após a inseminação artificial de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) ao tratamento hormonal com progesterona e estradiol

| Tratamento | Gestantes |
|--|--------------------------|
| Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 0% (0/25) ^a |
| Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 20% (5/25) ^a |
| Folículo ≥ 10mm sem P4+E2 (n=25) | 16% (4/25) ^a |
| Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 52% (13/25) ^b |

^{a, b} Valores seguidos por letras distintas diferem estatisticamente (P<0,05) pelo teste do qui-quadrado.

As taxas de gestação aos 30 dias para fêmeas dos grupos não tratados com progesterona (T1 e T3) foram semelhantes aos resultados obtidos por Ruas et al. (2005), de 18,75% (3/16) e 25% (4/16), em vacas primíparas mestiças F1 Holandês x Zebu sem tratamento hormonal, independente do peso corporal (leves ou pesadas). Também, foram semelhantes aos 17,8% (5/28) encontrados por Palomares-Naveda et al. (2008), em vacas mestiças de Zebu em anestro aos 60 dias pós-parto; De Castro et al. (2006), de 28,6% (8/28) em vacas de corte das raças Aberdeen Angus e Hereford em anestro aos 70 dias pós-parto e não tratadas com

hormônios para indução da ovulação; e semelhantes aos 20% (4/20) de gestação em vacas da raça Aberdeen Angus em anestro e, em média, aos 60 dias pós-parto (Aller et al., 1996). Também, verificou-se que os resultados para fêmeas do T2 (20%), cujo folículo dominante era menor que 10 mm e induzidas à ciclicidade, não diferem dos dados de vacas em anestro, sem tratamento hormonal para indução da ovulação, tal como citado acima.

Uma das razões para a menor fertilidade pode estar relacionada com a necessidade alternância de fases hormonais que expõem o útero ao estrógeno e à progesterona, envolvidos

no desenvolvimento e atividade secretória uterina, fundamental para a manutenção da gestação. Fazendo analogia, verifica-se aumento na taxa de fertilidade do primeiro para o terceiro estro de novilhas (Byerley et al., 1987).

Outro fato relacionado com a fertilidade pós-parto é que, normalmente, a primeira ovulação é, na maioria das vacas, seguida por um ciclo estral com duração curta duração (8 a 12 dias). Este ciclo é acompanhado por uma única onda de crescimento folicular, seguido pela formação de um corpo lúteo menor (Short et al., 1990) do que o encontrado em ciclos estrais normais, que secreta concentrações subluteais de progesterona e que regride precocemente (Yavas e Walton, 2000). Estudos de MacMillan e Watson (1971) e de Carvalho et al. (2008) verificaram 31,4% e 85,37% de ciclos estrais de curta duração com vacas leiteiras da raça Holandês e mestiças F1 Holandês x Zebu, respectivamente. Também, para Lamming et al. (1981), 50% das vacas no pós-parto apresentam produção de progesterona por um período mais curto do que a fase luteal normal, e é

resultante da ovulação ou luteinização folicular. Esta secreção de progesterona por um curto período, atua na sensibilização do eixo hipotalâmico-hipofisário para a síntese de gonadotropinas, bem como para a exteriorização do comportamento sexual, quando da segunda ovulação (MacMillan e Watson, 1971).

O manejo de amamentação adotado na propriedade e a melhor condição corporal dos animais do tratamento 4 levaram ao maior diâmetro folicular. Estas variáveis associadas com a terapia hormonal foram eficientes em aumentar a taxa de ovulação neste grupo (tabela 6). O maior diâmetro folicular, associado ao tratamento hormonal, pode proporcionar maturação folicular, com produção de estradiol suficiente para desencadear o pico ovulatório de LH, a ovulação, e a formação de corpo lúteo de função e duração normais (Lucy et al., 2001). Assim, verificou-se maior taxa de gestação nas fêmeas do grupo T4 (52%), que foram semelhantes aos 45,5% (10/22) de Palomares-Naveda et al. (2008) com vacas mestiças leiteiras, e aos 37,5% (6/16) e 50% (8/16) de

gestação no trabalho de Ruas et al. (2005) em primíparas mestiças leiteiras F1 Holandês x Zebu, com tratamento hormonal (norgestomet), de menor ou maior peso vivo, respectivamente.

Day (2004) relata que tratamentos com progesterona aumentam a frequência de pulsos de LH, promovem o crescimento folicular e a produção de estrógeno, induzem o pico pré-ovulatório de LH no momento adequado da maturidade do folículo dominante, determinam a ovulação e aumenta a fertilidade dos ciclos estrais de vacas em anestro. Isto pode explicar o melhor resultado para T4, encontrado no presente estudo.

Ainda, a maior taxa de gestação pode estar relacionada com o maior diâmetro do folículo dominante ovulatório no momento da inseminação artificial (Perry et al., 2005; Zuluaga et al., 2007). Portanto, as fêmeas do T4 apresentavam maior diâmetro do folículo dominante ($P < 0,05$) na retirada

do CIDR em relação às do T2 e, provavelmente, também apresentavam maior diâmetro folicular no momento da inseminação artificial, embora não tenha sido mensurado, e que ocasionou os melhores resultados.

4.4. Gestação acumulada e período de serviço de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas ou não a protocolo hormonal com progesterona e estradiol

A partir da avaliação de todas as inseminações artificiais realizadas durante o período experimental, e decorridos 68 dias do início dos protocolos hormonais nas fêmeas do T2 e T4, e no mesmo período correspondente para fêmeas de T1 e T3, verificou-se maior percentual de vacas gestantes (64%; 16/25) no T4, diferindo ($P < 0,05$) dos 32% (8/25) de vacas gestantes no T1. Entretanto, estes resultados não diferiram dos 40% (10/25) e 48% (12/25) de fêmeas gestantes no T2 e T3, respectivamente (tabela 10).

Tabela 10: Taxa de gestação acumulada aos 68 dias e período de serviço de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, submetidas ou não a protocolo hormonal com progesterona e estradiol

| Tratamentos | Gestantes | Não gestantes | Período de serviço (dias) |
|--|------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Folículo < 10mm sem P4+E2 (n=25) | 8 (32%) ^a | 17 (68%) ^a | 119,9 ± 23,2 ^A |
| Folículo < 10mm com P4+E2 (n=25) | 10 (40%) ^{ab} | 15 (60%) ^{ab} | 106,2 ± 34,9 ^{AB} |
| Folículo ≥ 10mm sem P4+E2 (n=25) | 12 (48%) ^{ab} | 13 (52%) ^{ab} | 112,2 ± 43,43 ^{AB} |
| Folículo ≥ 10mm com P4+E2 (n=25) | 16 (64%) ^b | 9 (36%) ^b | 91,7 ± 27,9 ^B |

^{a,b}Valores seguidos de letras minúsculas distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) entre si pelo teste do qui-quadrado.

^{A,B}Médias seguidas de letras maiúsculas distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) entre si pelo teste F.

As vacas do T4 apresentaram menor período de serviço (91,7 ± 27,9 dias), em relação aos demais tratamentos. Este mesmo grupo foi o que apresentou maior escore da condição corporal, maior taxa ovulatória e maior percentual de animais restabelecendo a atividade ovariana cíclica em resposta ao protocolo hormonal. Para Short et al. (1990), o anestro é a principal causa de baixa fertilidade no pós-parto e, por isso, a utilização de hormônios no pós-parto pode ser utilizada como um recurso de manejo o intuito de induzir a ovulação e reduzir o intervalo de partos de bovinos, desde que o animal esteja em uma fase puerperal que se encontre metabolicamente e fisicamente preparado para uma nova gestação.

Fêmeas da raça Gir Leiteiro apresentam, normalmente nas condições tradicionais de criação extensiva, prolongado período de anestro pós-parto e longo intervalo de partos. Animais desta raça depositam bastante gordura corporal no período pré-parto e, após a parição, acontece perda acentuada de peso vivo e escore corporal (Borges, 2001). Estas perdas são devido à menor capacidade consumo de forragens por vacas Gir (Santos, 1998) que, associado ao maior potencial para produção de leite com elevado teor de gordura, tendem a perder linearmente o peso e o escore corporal, principalmente nas condições de criação a pasto. A perda de peso e escore corporal pós-parto são mecanismos que visam atender às exigências para a produção de leite, que não são supridas pelo baixo consumo de

alimentos e levam ao balanço energético negativo (Britt, 1992).

O retorno da atividade ovariana cíclica após a parição depende da síntese e secreção de GnRH e da frequência de pulsos de LH. Contudo, vacas em balanço energético negativo possuem baixas concentrações destes hormônios e, por isso, com menor crescimento e tamanho dos folículos ovarianos (Hansen, 1991). Assim, o balanço energético negativo diminui a frequência de pulsos de LH no início do período pós-parto, tanto é que o folículo dominante desenvolve e torna-se atrésico, antes mesmo de chegar à ovulação (Stagg et al., 1995).

Assim, conforme o discutido acima, para que se obtenham resultados positivos com a utilização de protocolos hormonais no pós-parto recente, deve-se adotar manejo nutricional que proporcione bom escore da condição corporal antes e após o parto. Com isso, busca-se folículos dominantes de maior diâmetro (≥ 10 mm), com maior potencial ovulatório num pós-parto mais precoce e, portanto, menor período de

serviço, tal como ocorrido com os animais do tratamento T4 (tabela 10).

Os resultados encontrados no presente estudo estão de acordo com Ruas et al. (2005). Estes autores verificaram que o período de serviço de vacas mestiças primíparas leiteiras foi menor para animais de maior peso vivo e tratados com norgestomet ($94,6 \pm 43,3$ dias), quando comparado com as de menor peso vivo ($124,5 \pm 75,4$ dias). Ao contrário, o período de serviço foi de $131,0 \pm 63,9$ e $160,9 \pm 70,6$ dias para vacas pesadas e leves, respectivamente, e não submetidas a tratamento hormonal.

4.5. Área e volume dos corpos lúteos, e concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir Leiteiro submetidas a protocolo hormonal com progesterona e estradiol

Na tabela 11 estão apresentadas as medidas (área e volume) dos corpos lúteos e as concentrações plasmáticas de progesterona após a indução da ovulação de vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, tratadas com progesterona e estradiol.

Tabela 11: Área (cm²) e volume (cm³) dos corpos lúteos e concentrações plasmáticas de progesterona (ng/mL) decorridos 8, 21, 35 e 49 dias da ovulação induzida de vacas da raça Gir Leiteiro, submetidas a protocolo com progesterona e estradiol

| Variável | Dias após a indução da ovulação | | | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 8 | | 21 | | 35 | | 49 | |
| | T2 | T4 | T2 | T4 | T2 | T4 | T2 | T4 |
| Área (cm ²) | 2,1±0,5 | 2,3±0,7 | 2,4±0,5 | 2,7±0,5 | 2,5±0,2 | 2,7±0,4 | 2,4±0,2 | 2,7±0,5 |
| Volume (cm ³) | 1,8±0,4 | 2,3±0,9 | 2,5±0,6 | 2,9±0,9 | 2,8±0,4 | 3,1±0,6 | 2,7±0,3 | 3,4±0,9 |
| P ₄ (ng/mL) | 2,5±0,8 | 3,2±2,1 | 7,6±5,5 | 7,8±2,8 | 9,5±8,0 | 9,4±7,3 | 6,5±2,3 | 8,2±6,4 |

P>0,05

A literatura relata que os corpos lúteos de animais zebuínos são menores que o de taurinos (Rhodes et al., 1982). Todavia, não foram encontradas, no presente experimento, diferenças entre a área (cm²) dos corpos lúteos de vacas Gir Leiteiro ao longo das diferentes avaliações realizadas após o oitavo dia da indução da ovulação sendo, em média, de 2,5 ± 0,5 cm². Deve-se considerar que a área dos corpos lúteos foi semelhante à encontrada em animais ciclando regularmente, mostrando que a indução da ovulação de vacas em anestro foi capaz de levar à formação de corpos lúteos de tamanho normal. Borges et al. (2003) verificou corpos lúteos com áreas de 2,7 ± 0,4 e 4,0 ± 0,8 cm², em vacas da raça Gir Leiteiro ciclando regularmente, durante as estações da seca e das águas, respectivamente. Também, os valores encontrados conferem com o obtido (3,2

cm²) por Viana et al. (1999), em estudo com vacas da raça Gir.

Borges (2001) submeteu vacas da raça Gir Leiteiro, em anestro pós-parto (33 a 47 dias) e sob regime de manejo de uma ou duas amamentações diárias, a tratamento com progestágeno (norgestomet) e valerato de estradiol. O autor encontrou corpos lúteos com características morfológicas (área máxima de 4,4 ± 0,7 cm²) e funcionais (progesterona média de 4,3 ± 2,6 ng/mL) normais, semelhantes às de vacas ciclando regularmente.

No presente estudo, os volumes (cm³) dos corpos lúteos, em função dos dias após indução da ovulação (T2 e T4), são representados por regressões lineares (Figura 2), sendo $\hat{Y} = 3,01 + 0,17x$ (R² = 0,78; P=0,0024) para o tratamento T2

e $\hat{Y} = 3,5 + 0,21x$ ($R^2 = 0,94$; $P=0,0014$) para tratamento (T4).

No presente estudo os volumes dos corpos lúteos formados após a utilização do protocolo hormonal foram, em média, de $1,82 \pm 0,44$; $2,46 \pm 0,61$; $2,79 \pm 0,39$ e $2,72 \pm 0,33$ ng/mL para o tratamento T2 e, $2,29 \pm 0,96$; $2,92 \pm 0,86$; $3,07 \pm 0,63$ e $3,41 \pm 0,88$ ng/mL para o tratamento T4, decorridos 8, 21, 35 e 49 dias da ovulação induzida

respectivamente., ($p>0,05$). Borges et al. (2003) estudaram o desenvolvimento luteal de vacas zebu ciclando regularmente, e verificaram volumes variando de $3,3 \pm 0,5$ a $6,2 \pm 3,0$ cm³ para a raça Gir Leiteiro e de $3,7 \pm 0,9$ a $5,5 \pm 1,4$ cm³ para a raça Nelore, durante as épocas de seca e chuvas, respectivamente.

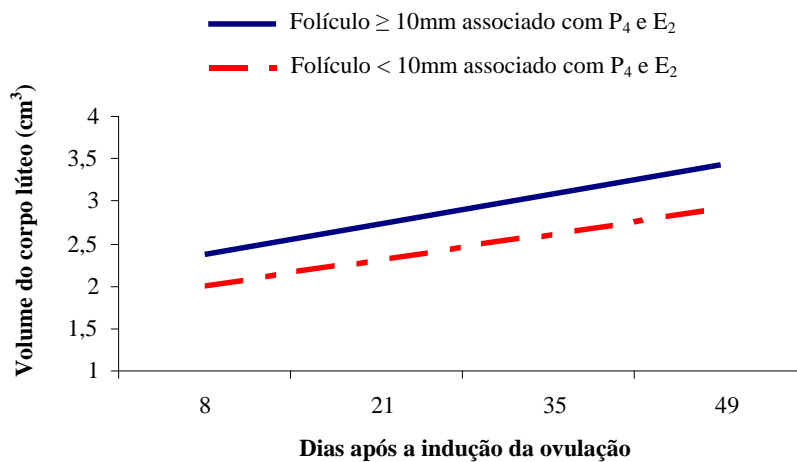


Figura 2: Volume dos corpos lúteos em função dos dias após indução da ovulação de vacas da raça Gir Leiteiro, em anestro pós-parto e tratadas com progesterona e estrógeno.

A concentração plasmática de progesterona das vacas gestantes dos tratamentos T2 e T4 caracteriza funcionalidade dos corpos lúteos, e são

representadas pelas equações de regressão $\hat{Y} = -0,88x^2 + 0,58x - 0,75$ ($R^2 = 0,97$; $P=0,003$) para T2 e $\hat{Y} = -0,72x^2$

+ 0,52x - 0,16 ($R^2 = 1,00$; $P=0,004$) para T4 (figura 3).

Ao início do experimento (colocação do implante em T2 e T4), a concentração plasmática de progesterona era de $0,5 \pm 0,3$ ng/mL; $0,4 \pm 0,2$ ng/mL; $0,4 \pm 0,2$ ng/mL e $0,6 \pm 1,1$ ng/mL para as fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4, respectivamente.

A produção e a concentração plasmática de progesterona variam durante o ciclo estral, em função das fases de crescimento, manutenção e regressão do

corpo lúteo (Borges et al., 2003). As concentrações de progesterona, aos oito dias após a ovulação, foram de $2,49 \pm 0,76$ ng/mL e de $3,21 \pm 2,12$ ng/mL para fêmeas do T2 e T4, respectivamente, e são semelhantes aos valores (2,46 ng/mL) de vacas Nelore gestantes, descritos por Mucciolo e Barberio (1983). Também, Borges et al. (2003) encontraram concentrações médias de progesterona de $4,1 \pm 1,4$ ng/mL em vacas da raça Gir Leiteiro, durante o diestro.

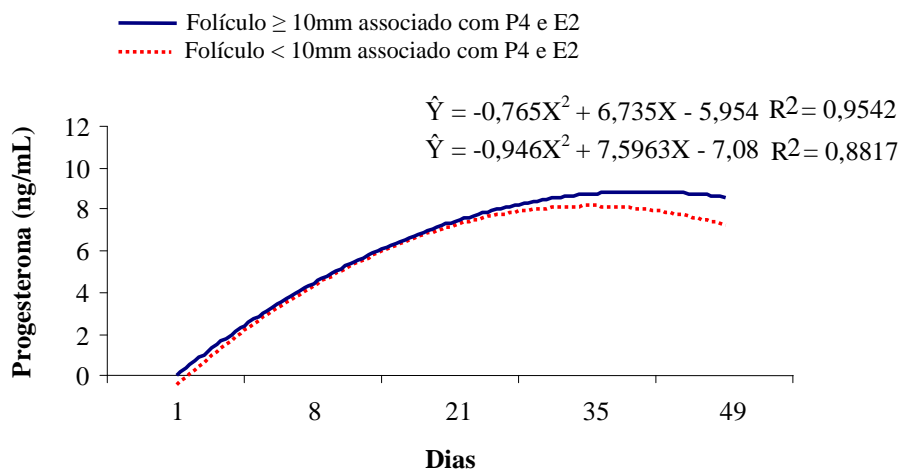


Figura 3: Concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir em função dos dias após indução da ovulação, nos grupos T2 e T4.

Também, Borges (2001) mensurou a concentração plasmática de progesterona de vacas da raça Gir

Leiteiro em anestro pós-parto, após a indução da ovulação com progestágeno, e verificou valores entre $3,2 \pm 2,7$ e $4,3$

$\pm 2,6$ ng/mL, semelhante ao de vacas ciclando regularmente (Borges et al., 2003). No presente estudo também foi verificado concentrações normais de progesterona (tabela 11) em vacas gestantes dos T2 e T4, respectivamente, semelhantes ao de vacas cíclicas. Mucciolo e Barberio (1983) encontraram valores entre 1,1 e 11,0 ng/mL em vacas da raça Nelore, e Ruas (1998) verificou $7,7 \pm 3,8$, $6,4 \pm 2,5$, $6,1 \pm 2,7$ ng/mL em vacas das raças Nelore, Gir e Guzerá cíclicas, respectivamente.

5. Conclusões

- A determinação do diâmetro folicular por meio da ultrasonografia, antes do início do protocolo hormonal, mostrou-se como uma ferramenta de maximização de resultados.
- O diâmetro do folículo dominante no dia da colocação do implante de progesterona interfere na resposta à indução da ovulação e da ciclicidade em vacas da raça Gir em anestro pós-parto.

- O protocolo utilizado foi eficiente em maximizar a manifestação de estro no pós-parto precoce de vacas Gir em anestro pós-parto.
- Vacas da raça Gir que possuem folículo dominante de diâmetro igual ou maior a 10 mm, ao início do protocolo hormonal com progesterona e estradiol, apresentam maiores taxas de ovulação, gestação e retorno a ciclicidade, além de menor período de serviço, após a indução da ciclicidade no período pós-parto precoce.

6. Referências Bibliográficas

- ABEYGUNAWARDENA, H.; DEMATAWEWA, C. M. B. Pre-pubertal and postpartum anestrus in tropical Zebu cattle. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.373-387, 2004.
- ALMERAYA, A. I. P.; HIDALGO, C. G. Utilización de progestágenos para la manipulación del ciclo estral bovino. *Veterinaria México*, v.23, p.31-36, 1992.
- ALLER, J. F.; ALBERIO, R. H.; SCENA, C. G. et al. Tratamientos hormonales para induccion y sincronizacion de celos en vacas de cria en anestro. *Revista Argentina de Producción Animal*, v. 15, p. 953-955, 1996.

ALVES, B. R. C. Produção *in vivo* e transferência de embriões F1 em rebanhos leiteiros, utilizando-se cruzamento recíproco entre as raças Holandês e Gir, em duas épocas do ano. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 2008. 110p. Dissertação (Mestrado) – UFMG - Escola de Veterinária, 2008.

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

ARIJE, G. R.; WILTBANK, J. N.; HOPWOOD, M. L. Hormone levels in pre and post-parturient beef cows. *Journal of Animal Science*, v.39, n.2, p.338-347, 1974.

AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone releasing intravaginal device. *Animal Reproduction Science, in press*, 2008, doi:10.1016/j.anireprosci.2007.12.001.

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.

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

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

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.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; NASSER, L.H.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotrophins in heifers. *Theriogenology*, v.40, p.225-239, 1993.

BÓ, G. A.; BARUSELLI, P. S.; MARTÍNEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.307-326, 2003.

BOLAÑOS, J. M.; GALINA, C. S.; ESTRADA, S. et al. Resumption of post-partum ovarian activity monitored by plasma progesterone in anoestrous zebu (*Bos indicus*) cattle following temporary weaning and progesterone treatment. *Reproduction Domestic Animal*, v.32, p.267-271, 1997.

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. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 134p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

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, 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, J. B. Z.; GREGORY, R. M. Indução da atividade cíclica ovariana pós-parto em vacas de corte submetidas à interrupção temporária do aleitamento associada ou não ao tratamento com norgestomet-estradiol. *Ciência Ruaral*, v.33, n.6, p.1105-1110, 2003.
- BOSSIS, I.; WETTEMANN, R. P.; WELTY, S. D. et al. Nutritionally induced anovulation in beef heifers: ovarian and endocrine function during realimentation and resumption of ovulation. *Biology of Reproduction*, v. 62, p.1436-1444, 2000.
- BOYD, L. G.; SMITH, G. F.; WOOD, P. D. P. et al. Fertility of inseminations with two sperm concentrations in oestrous-synchronized cattle. *Animal Production*, v.17, p.163-168, 1973.
- BRITT, J.H. Reproductive performance as affected by nutrition and environment. In: 3rd Florida Ruminant Nutrition Symposium, 1992, Orlando, Anais...Orlando, p.93-101, 1992.
- BROWN, J. G.; PETERSON, D. W.; FOOTE, W. D. Reproductive response of beef cows to exogenous progestogen, estrogen and gonadotropins at various stages postpartum. *Journal of Animal Science*, v.35, p.362-369, 1972.
- 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.
- CARRUTHERS, T. D.; CONVEY, E. M.; KESNER, J. S. et al. The hypothalamo-pituitary gonadotrophic axis of suckled and nonsuckled dairy cows postpartum. *Journal of Animal Science*, v.51, n.4, p.949-957, 1980.
- CARVALHO, B. C.; RUAS, J. R. M.; SILVA FILHO, J. M. et al. Dinâmica folicular de vacas mestiças F1 Holandês x Zebu (HZ) submetidas à indução da ovulação no pós-parto. In: Reunião Anual da SBTE, 21, 2007, Costa do Sauípe-BA. *Anais... Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, supl.3, p.1110, 2008.
- 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.
- CERRI, R. L. A., RUTIGLIANO, H. M., BRUNO, R. G. S. et al. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. *Animal Reproduction Science*, in press, 2008, doi:10.1016/j.anireprosci.2007.12.005.

- 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.
- DAY, M. L. Hormonal induction of estrous cycles in anestrus *Bos taurus* beef cows. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.487-494, 2004.
- DE CASTRO, T.; IBARRA, D.; VALDEZ, L. et al. Effects of early weaning and progesterone-estradiol treatments on postpartum reproductive efficiency of grazing anestrus beef cows. *Animal Reproduction*, v.3, p.396-402, 2006.
- DIAS, F. M. G. N. Efeito da condição corporal, razão peso/altura e peso vivo sobre o desempenho reprodutivo pos-parto de vacas de corte zebuínas. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais, 1991. 100p. Dissertação (Mestrado) - UFMG-Escola de Veterinária, 1991.
- DISKIN, M.G.; MACKEY, D.R.; STAGG, K. ROCHE, J. F.; SREENAN, J.M. Shortening the interval to the resumption of ovarian cycles in postpartum beef cows. *Beef Production Series*. No. 25 (Project No. 4010). Teagasc – Agriculture and Food Development Authority, 2001, 19p.
- DISKIN, M. G.; AUSTIN, E. J.; ROCHE, J. F. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, v.23, p.211–228, 2002.
- DISKIN, M. G.; MACKEY, 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.
- DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals: Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology*, v.55, p.1211-1239, 2001.
- DUFFY, P.; CROWE, M. A.; BOLAND, M. P. et al. Effect of exogenous LH pulses on the fate of the first dominant follicle in postpartum beef cows nursing calves. *Journal of Reproduction and Fertility*, v.118, p.9–17, 2000.
- ECHTERNKAMP, S. E.; HANSEL, W. Concurrent changes in bovine plasma hormone levels prior to and during the first postpartum estrus cycle. *Journal of Animal Science*, v.37, p.1362-1370, 1973.
- EDGERTON, L. A.; HAFS, H. D. Serum luteinizing hormone, prolactin, glucocorticoid, and progestin in dairy cows from calving to gestation. *Journal of Dairy Science*, v.56, p.451-458, 1973.
- 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.
- FERREIRA, A. M. Novos conceitos sobre o anestro pós-parto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11., 1995, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: [s.n.] 1995, p.62-70.
- FERREIRA, A. M.; TEIXEIRA, S. R.; SANTOS, P. C. B. et al. Taxa de natalidade em rebanhos leiteiros do Estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.21, p.122-124, 1997.
- 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.

- FIGUEIREDO, R.A., BARROS, C.M., ROCHA, G.P., PAPA, F.O. Prevalência de duas ondas de crescimento folicular ovariano em vacas da raça Nelore. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.19, p.200-211, 1995.
- 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.; NORTE, A. L.; CHOW, C. L. A. et al. Efeito da amamentação sobre a eficiência reprodutiva de vacas Zebu (*Bos indicus*). *Arquivo da Escola de Veterinária da UFMG*, v.33, p.165-171, 1981.
- FONSECA, V. O.; ANDRADE, V. J.; CHOW, C. L. A. et al. Efeito de diferentes métodos de amamentação sobre as eficiências produtivas e reprodutiva de um rebanho bovino de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.32, p.233-240, 1987.
- FONSECA, L.M. *Aspiração folicular em novilhas da raça Guzerá submetidas a tratamento hormonal com rBST associada ao FSH e dinâmica folicular durante o ciclo estral*. Campos dos Goytacazes, RJ: UENF, 2000. 109p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2000.
- FOOTE, W. D.; HUNTER, J. E. Post-partum 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.
- GALINA, C. S.; RUBIO, I.; BASURTO, H. et al. Consequences of different suckling systems for reproductive activity and productivity of cattle in tropical conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, v.72, p.255-262, 2001.
- 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.
- GONZÁLES, F. H. D. Endocrinologia reprodutiva da fêmea. In: *Introdução à Endocrinologia Reprodutiva Veterinária*. Porto Alegre: UFRGS, p.V1-V14, 2002.
- 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.
- HANZEN, C. H. Endocrine regulation of postpartum ovarian activity in cattle: a review. *Reproduction, Nutrition, Development*, v.26, p.1219-1239, 1986.
- HANSEN, P.J. The relationship between energy status and resumption of estrous cycles in cattle. In.: *Anais do IX Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, n.3 (v.1 – Suppl.): p. 200-209, 1991.
- JOLLY, P.D.; McDOUGALL, S.; FITZPATRICK, L.A.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W. Physiological effects of undernutrition on postpartum

- anoestrus in cows. *Journal of Reproduction and Fertility*, supl. 49, p.477-492, 1995.
- 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.
- LUCY, M. C.; BILLINGS, H. J.; BUTLER, W. R. et al. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF2alpha for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *Journal of Animal Science*, v.79, p.982-995, 2001.
- MACKKEY, D. R.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. et al. The effect of progesterone alone or in combination with estradiol on follicular dynamics, gonadotropin profiles, and estrus in beef cows following calf isolation and restricted suckling. *Journal of Animal Science*, v.78, p.1917-1929, 2000.
- MCDUGALL, 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.
- MCDUGALL, S.; BURKE, C. R.; MACMILLAN, K. L. et al. Patterns of follicular development during periods of anovulation in pasture-fed dairy cows after calving. *Research in Veterinary Science*, v.58, p.212-216, 1995.
- MACMILLAN, K. L.; WATSON, J. D. Short estrous cycles in New Zealand Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, v.54, p.1526-1529, 1971.
- MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE, B. V. E.; PINO, C. S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.327-344, 2003.
- MIHM, M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cows. *Reproduction in Domestic Animals*, v.34, p.277-284, 1999.
- MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. *Animal Reproduction Science*, v.85, p.1-26, 2005.
- MOSS, G. E.; CROWDER, M. E.; NETT, T. M. GnRH-receptor interaction: VI. Effect of progesterone and estradiol on hypophyseal receptors for GnRH, and serum and hypophyseal concentrations of gonadotropins in ovariectomized ewes. *Biology of Reproduction*, v.25, p.938-944, 1981.
- MUCCIOLO, R. G. e BARBERIO, J. C. Níveis de progesterona no plasma sanguíneo, durante o ciclo estral e a gestação de vacas Nelore (*Bos indicus*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.7, n.1, p.11-22, 1983.
- NATION, D. P.; BURKE, C. R.; PARTON, G. et al. Hormonal and ovarian responses to a 5-day progesterone treatment in anoestrus dairy cows in the third week post-partum. *Animal Reproduction Science*, v.63, p.13-25, 2000.
- 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.
- ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *Journal of Animal Science*, v.68, p.817-830, 1990.

- OLIVEIRA, K. P. L.; ARAÚJO, A. A.; MONTEZUMA JÚNIOR, P. A. et al. Comparação de dois métodos de indução e sincronização do estro e da ovulação em vacas leiteiras mestiças no anestro pós-parto. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.27, p.453-454, 2003.
- PALOMARES-NAVEDA, R. A.; PORTILLO-MARTINEZ, G.; GUTIERREZ-AÑES, J. C. et al. Treatment with an intravaginal progestagen and estradiol to prevent prolonged anestrus in crossbred zebu cows under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*, v.40, p.39-46, 2008.
- PANCARCI, S. M., JORDAN, E. R., RISCO, C. A. et al. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, v.85, p.122-131, 2002.
- PERRY, G. A.; SMITH, M. F.; LUCY, M. C. et al. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA*, v.102, p.5268-5273, 2005.
- RAY, D. E.; EMMERSON, M. A.; MELAMPY, R. M. Effect of exogenous progesterone on reproductive activity in the beef heifer. *Journal of Animal Science*, v. 20, p.373-379, 1961.
- RHODES, F. M.; BURKE, C. R.; CLARK, B. A. et al. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in postpartum anoestrus cows and cows which have resumed oestrus cycles. *Animal Reproduction Science*, v.69, p.139-150, 2002.
- RHODES, F. M.; MCDOUGALL, S.; BURKE, C. R. et al. Invited Review: Treatment of cows with an extended postpartum anoestrus interval. *Journal of Dairy Science*, v. 86, p.1876-1894, 2003.
- RIVERA, G. M.; GOÑI, C. G.; CHAVES, M. A. et al. Ovarian follicular wave synchronization and induction of ovulation in postpartum beef cows. *Theriogenology*, v.49, p.1365-1375, 1998.
- 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.
- RHODES, R.C. III; RANDEL, R.D.; LONG, C.R. Corpus luteum function in the bovine: in vivo and in vitro evidence for both a seasonal and breedtype effect. *Journal of Animal Science*, v.55, p.159-167, 1982.
- RUAS, J. R. M. Eficiência reprodutiva e perfil metabólico de vacas zebu em relação a status reprodutivo, amamentação diferenciada e suplementação alimentar. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1998. 107p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Viçosa, 1998.
- 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.
- SÁ FILHO, O. G. e VASCONCELOS, J. L. M. Fatores que alteram a dinâmica das ondas foliculares e seus impactos na fertilidade de fêmeas bovinas. *Acta*

Scientiae Veterinariae, v.36, supl.2, p.s409-s432, 2008.

SAIDUDDIN, S.; QUEVEDO, M. M.; FOOTE, W. D. Response of beef cows to exogenous progesterone and estradiol at various stages postpartum. *Journal of Animal Science*, v.27, p.1015-1020, 1968.

SANTOS, R. O zebu – Edição comemorativa dos 60 anos do Registro Genealógico –ABCZ – Associação Brasileira dos criadores de zebu, p. 170-191, 1998.

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, 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.; 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.

SHORT, R. E.; BELLOWS, R. A.; MOODY, E. L. et al. Effects of suckling and mastectomy on bovine postpartum reproduction. *Journal of Animal Science*, v.34, p.70-74, 1972.

SHORT, R. E.; STAIGMILLER, R. B.; BELLOWS, R. A. et al. Effects of suckling on postpartum reproduction. In: Fields, M. J.; Sand, R. S. (ed). *Factors affecting calf crop*. Boca Raton: CRC Press, 1994, p.179-187.

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.

SINCLAIR, K.D.; REVILLA, R.; ROCHE, J.F.; QUINTANS, G.; SANZ, A.; MACKEY, D.R.; DISKIN, M.G. Ovulation of the first dominant follicle arising after day 21 postpartum in suckling beef cows. *Journal of Animal Science*, v.75, p.115-126, 2002.

SPICER, L. J.; ECHTERNKAMP, S. E. The ovarian insulin and insulin-like growth factor system with an emphasis on domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 12, p. 223-245, 1995.

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. Effects 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.

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, 1999.

WILTBANK, J. N.; ROWDEN, W. W.; INGALLS, J. E. et al. Effect of energy level on reproductive phenomena of mature hereford cows. *Journal of Animal Science*, v.21, p.219-225, 1962.

WILTBANK, M. C. Uso eficaz de hormônios de reprodução: I. Período logo após o parto. In: *Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, IV*, 2000, Passos-MG. *Anais...*, p.25-31, 2000.

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

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

WILLIAMS, G.L. Implicações da amamentação e manejo da cria na eficiência reprodutiva futura de vacas de corte. *V Curso Novos enfoques na produção e*

reprodução de bovinos, Anais...,p.65-73, 2001.

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

ZULUAGA, J. F., SALDARRIAGA, J. P., COOPER, D. A. et al. Evaluation of vaginal electrical resistance as an indicator of follicular maturity and suitability for timed artificial insemination in beef cows subjected to a synchronization of ovulation protocol. *Animal Reproduction Science*, in press, 2007, doi:10.1016/j.anireprosci.2007.10.002.

7. Anexos

Análise 1: 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 | 3 | 51,404 | 17,13467 | 1,230 | 0,30 |
| Erro | 96 | 1337,308 | 13,93029 | | |
| Coeficiente de Variação | | 51,69 | | | |

Análise 2: 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 | 3 | 767,2 | 255,7333 | 0,420 | ***** |
| Erro | 96 | 58472,16 | 609,0850 | | |
| Coeficiente de Variação | | 37,35 | | | |

Análise 3: Ordem de 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 | 3 | 46,24 | 15,41333 | 2,316 | 0,08 |
| Erro | 96 | 638,8 | 6,654167 | | |
| Coeficiente de Variação | | 59,16 | | | |

Análise 4: Escore de condição corporal das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto no início do experimento

| Tratamento | ECC | p | T2 | T3 | T4 |
|------------|-----|---|----|----|----|
|------------|-----|---|----|----|----|

| | | | | | |
|-------------------|----|---|------|------|------|
| 1 | 9 | p | 0,35 | 0,04 | 0,00 |
| 2 | 15 | p | | 0,20 | 0,04 |
| 3 | 16 | p | | | 0,83 |
| 4 | 22 | | | | |
| Teste estatístico | | | | | |
| Mann-Witney | | | | | |

Análise 5: Diâmetro do folículo dominante 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 | 3 | 2,249035 | 0,7496783 | 43,958 | 0,00 |
| Erro | 96 | 1,637240 | 0,1705458E-01 | | |
| Coeficiente de Variação | | 13,98 | | | |

Análise 6: Diâmetro do folículo dominante das vacas da raça Gir Leiteiro em anestro pós-parto, no período correspondente ao término do tratamento hormonal com progesterona e estradiol

| Análise de variância | | | | | |
|-------------------------|----|--------------------|----------------|-------|------|
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 3 | 0,5428190 | 0,7496783 | 3,704 | 0,01 |
| Erro | 96 | 4,689856 | 0,4885267E-01 | | |
| Coeficiente de Variação | | 21,02 | | | |

Análise 7: Diferença do diâmetro do folículo dominante de acordo com o tratamento, no período correspondente ao início e final do protocolo hormonal

| Tratamento | GL | Teste t | p |
|------------|----|---------|------|
| 1 | 24 | 5,419 | 0,00 |
| 2 | 24 | 3,392 | 0,00 |
| 3 | 24 | 0,602 | 0,55 |
| 4 | 24 | 1,119 | 0,27 |

Análise 8: Taxa de manifestação de estro de vacas da raça Gir Leiteiro pertencentes aos tratamentos T1, T2, T3 e T4 ao término do tratamento hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4) ou no período equivalente

| Tratamento | Estro | Sem Estro | Total | p | T2 | T3 | T4 |
|-------------------|-------|-----------|-------|---|------|------|-------|
| 1 | 1 | 24 | 25 | p | 0,00 | 1,00 | 0,00 |
| 2 | 25 | 0 | 25 | p | | 0,00 | ***** |
| 3 | 1 | 24 | 25 | p | | | 0,00 |
| 4 | 25 | 0 | 25 | | | | |
| Teste estatístico | | GL | | | | | |
| Qui-quadrado | | 1 | | | | | |

Análise 9: Intervalo (h) da retirada do CIDR ao estro das vacas dos tratamentos T2 e T4

| Tratamento | Intervalo |
|-------------------|--------------|
| 2 | 41,64 ± 5,14 |
| 4 | 36,68 ± 7,85 |
| Teste estatístico | |
| Mann-Witney | |
| | 212,5 |
| | p |
| | 0,01 |

Análise 10: Número de fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 que ovularam após protocolo hormonal com progesterona e estradiol (T2 e T4), ou no período correspondente (T1 e T3)

| Tratamento | Ovulou | Não Ovulou | Total | p | T2 | T3 | T4 |
|-------------------|--------|------------|-------|---|------|------|------|
| 1 | 4 | 21 | 25 | p | 0,00 | 0,49 | 0,00 |
| 2 | 15 | 10 | 25 | p | | 0,04 | 0,05 |
| 3 | 7 | 18 | 25 | p | | | 0,00 |
| 4 | 22 | 3 | 25 | | | | |
| Teste estatístico | GL | | | | | | |
| Exato de Fischer | 1 | | | | | | |

Análise 11: Número de fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 gestantes aos 30 dias do término do tratamento hormonal para indução da ciclicidade (T2 e T4), ou não (T1 e T3)

| Tratamento | Gestante | Vazia | Total | p | T2 | T3 | T4 |
|-------------------|----------|-------|-------|---|------|------|------|
| 1 | 0 | 25 | 25 | p | 0,06 | 0,12 | 0,00 |
| 2 | 5 | 20 | 25 | p | | 0,71 | 0,03 |
| 3 | 4 | 21 | 25 | p | | | 0,02 |
| 4 | 13 | 12 | 25 | | | | |
| Teste estatístico | GL | | | | | | |
| Qui-quadrado | 1 | | | | | | |

Análise 12: Número de fêmeas dos tratamentos T1, T2, T3 e T4 com gestação confirmada no final do experimento (taxa de gestação acumulada)

| Tratamento | Gestante | Vazia | Total | p | T2 | T3 | T4 |
|-------------------|----------|-------|-------|---|------|------|------|
| 1 | 8 | 17 | 25 | p | 0,77 | 0,39 | 0,05 |
| 2 | 9 | 16 | 25 | p | | 0,57 | 0,09 |
| 3 | 12 | 13 | 25 | p | | | 0,39 |
| 4 | 16 | 9 | 25 | | | | |
| Teste estatístico | GL | | | | | | |
| Qui-quadrado | 1 | | | | | | |

Análise 13: Período de serviço de vacas da raça Gir submetidas (T2 e T4) ou não (T1 e T3) a protocolo hormonal com progesterona e estradiol para indução da ciclicidade, no pós-parto precoce

| Tratamento | F. V. | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p | CV (%) |
|------------|---------|----|--------------------|----------------|-------|------|--------|
| 1 x 2 | Trat | 1 | 831.1361 | 831.1361 | 0,903 | **** | 27,02 |
| | Residuo | 16 | 14730.47 | 920.6547 | | | |
| 1 x 3 | Trat | 1 | 285.2083 | 285.2083 | 0,210 | **** | 32,01 |
| | Residuo | 18 | 24500.54 | 1361.141 | | | |
| 1 x 4 | Trat | 1 | 4237.521 | 4237.521 | 6,033 | 0,02 | 26,22 |
| | Residuo | 22 | 15452.31 | 702.3778 | | | |
| 2 x 3 | Trat | 1 | 194.1879 | 194.1879 | 0,122 | **** | 36,39 |
| | Residuo | 20 | 31721.27 | 1586.063 | | | |
| 2 x 4 | Trat | 1 | 1296.078 | 1296.078 | 1,372 | 0,25 | 31,59 |
| | Residuo | 24 | 22673.04 | 944.7099 | | | |
| 3 x 4 | Trat | 1 | 2875.860 | 2875.860 | 2,305 | 0,14 | 35,16 |
| | Residuo | 26 | 32443.10 | 1247.812 | | | |

Análise 14: Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos oito dias da indução da ovulação

| Análise de variância (Área) | | | | | | |
|-----------------------------|----|--------------------|----------------|-------|---------|--|
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p | |
| Tratamento | 1 | 0,1816892 | 0,1816892 | 0,380 | 0,00000 | |

| | | | | | |
|-------------------------------|----|--------------------|----------------|-------|---------|
| Erro | 16 | 7,653111 | 0,4783194 | | |
| Coeficiente de Variação | | 30,33 | | | |
| Análise de variância (Volume) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 1 | 0,8224277 | 0,8224277 | 1,105 | 0,30873 |
| Erro | 16 | 11,90557 | 0,7440983 | | |
| Coeficiente de Variação | | 39,81 | | | |

Análise 15: Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos 21 dias da indução da ovulação

| | | | | | |
|-------------------------------|----|--------------------|----------------|-------|---------|
| Análise de variância (Área) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 1 | 0,1687201 | 0,1687201 | 0,653 | 0,00000 |
| Erro | 16 | 4,132508 | 0,2582817 | | |
| Coeficiente de Variação | | 19,65 | | | |
| Análise de variância (Volume) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 1 | 0,7458219 | 0,7458219 | 1,159 | 0,29767 |
| Erro | 16 | 10,29729 | 0,6435806 | | |
| Coeficiente de Variação | | 28,73 | | | |

Análise 16: Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos 35 dias da indução da ovulação

| | | | | | |
|-------------------------------|----|--------------------|----------------|-------|---------|
| Análise de variância (Área) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 1 | 0,1174003 | 0,1174003 | 0,944 | 0,00000 |
| Erro | 16 | 1,990311 | 0,1243944 | | |
| Coeficiente de Variação | | 13,29 | | | |
| Análise de variância (Volume) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | P |
| Tratamento | 1 | 0,2918892 | 0,2918892 | 0,871 | 0,0000 |
| Erro | 16 | 5,363711 | 0,3352319 | | |
| Coeficiente de Variação | | 19,34 | | | |

Análise 17: Área e volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4, decorridos 49 dias da indução da ovulação

| | | | | | |
|-------------------------------|----|--------------------|----------------|-------|--------|
| Análise de variância (Área) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 1 | 0,3432492 | 0,3432492 | 1,661 | 0,2158 |
| Erro | 16 | 3,305751 | 0,2066094 | | |
| Coeficiente de Variação | | 17,11 | | | |
| Análise de variância (Volume) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Tratamento | 1 | 1,729231 | 1,729231 | 2,861 | 0,1102 |
| Erro | 16 | 9,671480 | 0,6044675 | | |
| Coeficiente de Variação | | 19,34 | | | |

Análise 18: Regressão linear do volume do corpo lúteo das fêmeas gestantes dos tratamentos T2 e T4

| | | | | | |
|--|----|--------------------|----------------|-------|--------|
| Análise de variância da regressão (T2) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | P |
| Regressão | 1 | 2,268036 | 2,268036 | 10,38 | 0,0047 |

| Independente | 18 | 3,931884 | 0,2184380 | | |
|--|----|--------------------|----------------|-------|--------|
| Análise de variância da regressão (T2) | | | | | |
| Fonte de variação | GL | Soma dos Quadrados | Quadrado Médio | F | p |
| Regressão | 1 | 7,899625 | 7,899625 | 11,46 | 0,0014 |
| Independente | 50 | 34,47288 | 0,6894575 | | |