

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DINÂMICA FOLICULAR DE VACAS DE CORTE TRATADAS COM TRÊS  
PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO**

**LUCIANO CAVALHEIRO MELO**

**Porto Alegre, 2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**DINÂMICA FOLICULAR DE VACAS DE CORTE TRATADAS COM TRÊS  
PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias na área de Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory

**LUCIANO CAVALHEIRO MELO**

**Porto Alegre, 2009**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao amigo e orientador, Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory pela oportunidade, orientação e crédito para realização deste trabalho.

Agradeço aos meus pais, Adel Melo e Maria Eurides Melo, pelo apoio, amor incondicional e pelo constante incentivo.

Aos meus irmãos, Fabiano e Rossano, pela amizade e incentivo.

Ao REPROLAB, em especial ao Prof. Dr. Rodrigo Costa Mattos, bolsistas e estagiários pelo apoio e amizade.

À equipe de Reprodução de Bovinos, em especial ao Andrei Beskow, Brunna Velho, Diego Cardozo, Giovana Evangelista, Joana Gregory, Márcio Reck e Pablo Marques pela grande ajuda e dedicação na realização deste trabalho e pela amizade.

Ao Dr. Diego Azeredo pela grande ajuda na realização do experimento e pela amizade.

Aos meus amigos Henrique Löf e Marcos Pacheco pela grande amizade, força e incentivo.

Aos meus tios e primos de Porto Alegre pelo apoio, auxílio e dedicação desde o meu primeiro dia de vida na capital.

Aos meus amigos de sempre, que de longe ou de perto sempre estão presentes.

À UFRGS e ao PPGCV pela oportunidade.

Obrigado a todos!

## RESUMO

### Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação

Dissertação de Mestrado

Autor: Luciano Cavalheiro Melo

Orientador: Dr. Ricardo Macedo Gregory

Este trabalho teve por objetivo avaliar a dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com protocolos para a sincronização da ovulação onde se utilizou implantes vaginais impregnados com progesterona ou com acetato de medroxi-progesterona e um implante auricular impregnado com norgestomet, além da utilização de ésteres de estradiol em diferentes doses. Foram utilizadas nove vacas Braford, múltíparas, não-lactantes, cíclicas e com  $CC \geq 3$ . Os animais foram mantidos confinados e alimentados com feno e ração. Os animais foram divididos em três tratamentos, sendo que todos os animais passaram pelos três tratamentos em quatro repetições. Em cada repetição os animais foram divididos entre os três grupos de forma homogênea. No grupo 1 ( $n = 14$ ), os animais receberam no dia 0, uma esponja vaginal impregnada com 250 mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP) e uma aplicação intramuscular (i.m.) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE); no dia 8, a esponja vaginal foi retirada e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol e 24 horas após foi aplicado i.m. 1 mg de BE. No grupo 2 ( $n = 7$ ), os animais receberam no dia 0, um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona e uma aplicação i.m. de 2 mg de BE; no dia 8, o implante foi retirado e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol e 24 horas após foi aplicado i.m. 1 mg de BE. No grupo 3 ( $n = 8$ ), os animais receberam no dia 0, um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de Norgestomet e uma aplicação i.m. de 3 mg de Norgestomet e 5 mg de Valerato de Estradiol (VE); no dia 9 o implante auricular foi retirado. Os animais foram examinados diariamente por via trans-retal com um ultra-som equipado com um transdutor linear de 8 MHz para monitorar a dinâmica folicular e luteal nos ovários. Após a retirada do implante auricular no grupo 3 e após a aplicação de 1 mg de BE nos grupos 1 e 2, os animais foram avaliados por ultra-sonografia duas vezes por dia até que a ovulação fosse detectada. No grupo 1, sete animais perderam a esponja vaginal impregnada com MAP e os dados foram retirados das análises. Os três tratamentos foram eficientes em promover uma nova onda de crescimento folicular sincronizada em  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  e  $4,9 \pm 1,1$  dias ( $P = 0,059$ ) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Além de promover a ovulação de um folículo dominante com poucos dias de dominância e com diâmetro satisfatório em  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  e  $70,5 \pm 12,7$  horas após a retirada do implante ( $P = 0,62$ ) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Portanto, os três protocolos foram eficientes em promover a sincronização da ovulação e são indicados para utilização em programas de inseminação artificial a tempo fixo em vacas de corte.

**Palavras Chave:** vacas de corte, sincronização da ovulação, progesterona, MAP, norgestomet, benzoato de estradiol, valerato de estradiol.

## **ABSTRACT**

### ***Ovarian follicular dynamics in beef cows treated with three protocols of synchronization of ovulation***

*Master of Science Dissertation*

*Author: Luciano Cavalheiro Melo*

*Adviser: Dr. Ricardo Macedo Gregory*

*This experiment was done to evaluate the ovarian follicular dynamics in beef cows treated with protocols of synchronization of ovulation where were used vaginal implants impregnated with progesterone or with medroxi-progesterone acetate and an ear implant impregnated with norgestomet, than the use of estradiol esters in different doses. Nine Braford cows, multiparous non-lactating, cyclic and  $BCS \geq 3$  where used in these trial. The animals were kept confined and fed with hay and concentrated. The animals were divided into three treatments, which all animals went for three treatments in four replicates. In each replicate the animals were divided among groups homogeneously. Group 1 ( $n = 14$ ), animals received on day 0, a vaginal sponge impregnated with 250 mg medroxi-progesterone acetate (MPA) and an intramuscular (i.m.) application of 2 mg of estradiol benzoate (EB); on day 8, the vaginal sponge was removed and applied i.m. 0.5 mg cloprostenol and 24 hours latter was applied i.m. 1 mg of EB. Group 2 ( $n = 7$ ), the animals received on day 0, a silicone vaginal implant with 1 g of progesterone and an application i.m. of 2 mg of EB; on day 8, the implant was removed and applied i.m. 0.5 mg cloprostenol and 24 hours latter was applied i.m. 1 mg of EB. Group 3 ( $n = 8$ ), the animals received on day 0, a silicone ear implant impregnated with 3 mg norgestomet and an application i.m. of 3 mg norgestomet and 5 mg of estradiol valerate; on the 9th day the implant was removed. From day 0, animals were examined daily by trans-rectal ultrasound with an 8 MHz linear transducer to monitor follicular and luteal dynamics. After removal of the implant in group 3 and after application of 1 mg EB in the other groups, the animals were evaluated by ultrasound two times per day until ovulation was detected. In group 1, seven animals lost a vaginal sponge impregnated with MPA and the data were removed from analysis. The three treatments groups were effective in promoting a new follicular wave emergence synchronously in  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  and  $4,9 \pm 1,1$  days ( $P = 0,059$ ) in the groups 1, 2 and 3, respectively. Besides promoting ovulation a dominant follicle with few days of dominance and with satisfactory diameter in  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  and  $70,5 \pm 12,7$  hours after implant removal ( $P = 0,62$ ) in the groups 1, 2 and 3, respectively. Therefore, the three protocols were effective in promoting the synchronization of ovulation and are indicated for use in fixed-time artificial insemination programs in beef cows.*

**Keywords:** *beef cows, synchronization of ovulation, progesterone, MPA, norgestomet, estradiol benzoate, estradiol valerate.*

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: Box e whisker plots para o dia da emergência da onda em vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. As caixas abrangem 50% dos dados e são seccionadas por uma linha que corresponde à média. As linhas verticais indicam a variação dos dados. No grupo 1, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 2, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 3, os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado..... 31
- FIGURA 2: Momento da ovulação (horas) após a retirada do implante de progesterona/progestágeno em vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. No grupo 1, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 2, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 3, os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado..... 31

## **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1: Resultados da dinâmica folicular e luteal de vacas de corte tratadas com três protocolos para a sincronização da ovulação.....	32
--	----

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>BE</b>	Benzoato de estradiol
<b>CC</b>	Escore de condição corporal
<b>CIDR</b>	Controlled Internal Drug Release
<b>CL</b>	Corpo lúteo
<b>ECP</b>	Cipionato de estradiol
<b>FD</b>	Folículo dominante
<b>FSH</b>	Hormônio Folículo Estimulante
<b>GnRH</b>	Hormônio liberador de gonadotrofinas
<b>hCG</b>	Gonadotrofina coriônica humana
<b>IATF</b>	Inseminação artificial a tempo fixo
<b>IGF</b>	Fator de crescimento semelhante à insulina
<b>i.m.</b>	Intramuscular
<b>LH</b>	Hormônio Luteinizante
<b>MAP</b>	Acetato de medroxi-progesterona
<b>mg</b>	Miligrama
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>PGF2<math>\alpha</math></b>	Prostaglandina F2 $\alpha$
<b>RNA<math>m</math></b>	Ácido Ribonucléico mensageiro
<b>VE</b>	Valerato de estradiol



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1. Ciclo estral e dinâmica folicular.....	13
2.2. Importância do Sistema IGF no processo de divergência folicular.....	15
2.3. Sincronização de estro com Prostaglandina F2 $\alpha$ .....	16
2.4. Sincronização de estro com o uso de progesterona e progestágenos.....	17
2.5. Sincronização da ovulação.....	20
3. REFERÊNCIAS.....	22
4. ARTIGO	
Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação.....	27
Resumo.....	27
Abstract.....	28
Introdução.....	28
Material e Métodos.....	29
Análise Estatística.....	30
Resultados.....	33
Discussão.....	33
Conclusão.....	39
Referências.....	39

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente exige-se dos pecuaristas máxima eficiência de produção para garantia de retorno econômico. Desta forma, elevados índices de produção, associados à alta eficiência reprodutiva, devem ser metas que norteiam os técnicos e criadores a alcançarem maior produtividade e satisfatório retorno econômico na atividade. Neste contexto, a otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para melhora do desempenho produtivo e da lucratividade dos rebanhos bovinos (BARUSELLI, 2004).

Para alcançar a máxima eficiência reprodutiva em um rebanho é necessário que todos os aspectos fisiológicos, nutricionais e de manejo estejam perfeitamente integrados e em pleno funcionamento. A rentabilidade na exploração de bovinos de corte é diretamente dependente da porcentagem de vacas que são capazes de obter um intervalo de partos em torno de 365 dias. Isto implica na necessidade da concepção acontecer no máximo até o 85º dia pós-parto (OLIVEIRA FILHO et al., 1999).

A inseminação artificial é uma técnica consagrada e viável para acelerar o avanço genético e o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, em todo o mundo, existem relatos que indicam a baixa taxa de serviços em bovinos, devido principalmente, a comprometimentos na eficiência da detecção de estro. Este problema é ainda mais destacado em rebanhos *Bos indicus* ou suas cruzas, devido às particularidades no comportamento reprodutivo, como estro de curta duração com elevada porcentagem de manifestação noturna (BARUSELLI & MARQUES, 2002). Fêmeas *Bos indicus* apresentam estro por aproximadamente 10 horas (BÓ et al., 2003a). Somado a este fator, mais de 50% dos animais desse grupo genético iniciam a manifestação de estro no período noturno, sendo que cerca de 30% iniciam e encerram o estro durante a noite (PINHEIRO et al., 1998), dificultando o manejo e reduzindo a eficácia da detecção de estro.

Para evitar os problemas da detecção de estro em rebanhos de cria, foram desenvolvidos protocolos de sincronização que permitem inseminar um grande número de animais num período de tempo estabelecido. Estes tratamentos são conhecidos como protocolos de inseminação artificial a tempo fixo (IATF), e se dividem entre os que utilizam combinações de GnRH e PGF2 $\alpha$ , e os que utilizam dispositivos com progesterona ou

progestágenos (análogos sintéticos da progesterona) e estradiol (BARUSELLI & MARQUES, 2002).

Em bovinos de corte, tão importante quanto a própria prenhez, é como esta se distribui durante a estação reprodutiva. A sincronização de estro se constitui numa técnica que contribui para otimizar a utilização do tempo, mão-de-obra e recursos financeiros por encurtar o período de parição, proporcionando aumento do peso e da uniformidade dos produtos (DAHLEN et al., 2003).

Como vantagens da IATF pode-se destacar: eliminar a necessidade de observação de estro; evitar inseminações das vacas fora do momento certo, diminuindo o desperdício de sêmen, material e mão-de-obra; induzir a ciclicidade em vacas em anestro transicional, permitindo a inseminação dessas fêmeas; diminuir o intervalo entre partos, aumentando o número de bezerros nascidos; possibilitar a programação das inseminações em curto período; concentrar o retorno do estro das fêmeas falhadas na primeira inseminação em tempo fixo, facilitando o diagnóstico de estro no repasse; possibilitar altas taxas de prenhez no início da estação de monta; concentrar a mão-de-obra, diminuindo o número de horas extras com inseminadores; diminuir o descarte e o custo de reposição de matrizes do rebanho; e diminuir o investimento com touros (BARUSELLI et al., 2004).

Segundo CUTAIA et al. (2003), os dispositivos com progesterona/progestágeno são efetivos para a sincronização de estro em novilhas, vacas solteiras e vacas com cria ao pé. Estes devem ser acompanhados de uma injeção de estradiol no momento da inserção para sincronizar o desenvolvimento de uma nova onda folicular e uma segunda dose de estradiol ao final do tratamento para sincronizar a ovulação. O grupo de Cutaia obteve, em um total de 10.602 inseminações em tempo fixo, 53,9% de prenhez.

No entanto, a escolha do protocolo de sincronização deve levar em consideração alguns aspectos como categoria animal e CC. A condição corporal é um dos fatores mais importante, sendo que os resultados de prenhez podem variar desde 28,7% (vacas com cria ao pé e CC de 2,5) a um máximo de 75% (novilhas com CC 3). A CC das vacas e novilhas ao início de um protocolo de sincronização de estro não deve ser menor que 2,5 para que sejam alcançados resultados aceitáveis de prenhez (CUTAIA et al., 2003).

Os programas de sincronização da ovulação para IATF procuram induzir a emergência de uma onda de crescimento folicular sincronizada, controlar a duração do crescimento folicular e da fase luteínica até o estágio pré-ovulatório, sincronizar a retirada da progesterona exógena e endógena e induzir a ovulação sincronizada em todos os animais tratados (BARUSELLI, 2004).

Apesar da eficiência dos protocolos de sincronização de estro e ovulação para IATF, um dos entraves para uma maior adesão dos proprietários é o alto custo destes, sendo a esponja vaginal impregnada com MAP uma opção mais barata aos implantes de progesterona/progestágeno presentes no mercado, o que reduz substancialmente o custo do protocolo.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. Nesses protocolos foram utilizados dois implantes comerciais de liberação lenta de progesterona/progestágeno (Primer® - Progesterona natural e Crestar® - Norgestomet) e a esponja vaginal impregnada com acetato de medroxi-progesterona produzida pelo laboratório de reprodução animal – Reprolab – UFRGS.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Ciclo Estral e Dinâmica Folicular

O ciclo estral da fêmea bovina é controlado por uma complexa interação neuroendócrina, coordenada pelo eixo hipotálamo – hipófise – ovário – útero e por mecanismos intra-ováricos que estabelecem uma dinâmica folicular a qual permite o desenvolvimento de um folículo maduro capaz de ovular em momento propício e produzir assim, uma célula capaz de ser fecundada (CALLEJAS, 2001).

O processo contínuo de crescimento e regressão de folículos antrais que leva ao desenvolvimento do folículo pré-ovulatório no ovário é conhecido como dinâmica folicular ovariana, o qual envolve o desenvolvimento sincronizado de um grupo de folículos, denominado onda folicular (GINTHER et al., 1989). O ciclo estral dos bovinos dura em média 21 dias, com variações de 17 a 24 dias, e apresenta, geralmente, duas ou três ondas de crescimento folicular (GINTHER et al., 1996) e raramente, uma ou quatro ondas. O número de ondas por ciclo estral parece estar associado com o comprimento do ciclo e com a duração da fase luteínica (GINTHER et al., 1989).

Cada onda de crescimento folicular é caracterizada por um grupo de pequenos folículos que são recrutados (emergência folicular) e iniciam uma fase de crescimento comum por cerca de três dias (GINTHER et al., 2003). Destes, apenas um continua seu desenvolvimento (folículo dominante), enquanto os outros entram em processo de atresia (folículos subordinados; LUCY et al., 1992), estabelecendo-se então, o fenômeno da divergência folicular. Após a divergência, e na presença de altos níveis de progesterona, que promove redução da frequência na pulsatilidade do LH, o folículo dominante torna-se anovulatório. A partir desse momento começa o processo de atresia e perda da dominância, dando início a uma nova onda de crescimento folicular (GINTHER et al., 1989). Porém, quando o folículo dominante está presente no momento da regressão luteínica, este culmina com a ovulação (FORTUNE et al., 2004). A divergência (ou desvio) folicular é definida pela diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos, sendo marcada pela continuidade no desenvolvimento do maior folículo e declínio ou parada no crescimento dos outros. Em bovinos da raça Holandesa (*Bos taurus*), o desvio tem início por volta do dia 2,8

após a emergência, quando o folículo dominante atinge em média 8,5 mm e o maior folículo subordinado 7,2 mm (GINTHER et al., 1996).

Portanto, dentro de uma onda folicular, três fenômenos são morfológica e fisiologicamente caracterizados: emergência (recrutamento), seleção (desvio) e dominância folicular. Sabe-se que as gonadotrofinas hipofisárias, FSH e LH, atuam na manifestação, manutenção e suspensão destes eventos (GINTHER et al., 1996).

A emergência folicular é caracterizada por ser um processo onde um grupo de folículos cresce simultaneamente no ovário, estimulado pelo pico de liberação de FSH (ADAMS, et al., 1992). Neste momento, esses folículos apresentam em torno de 4 mm de diâmetro, sendo responsivos e dependentes dessa gonadotrofina (GINTHER et al., 2002). O FSH permite que os folículos mantenham seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade esteroideogênica (ADAMS et al., 1992).

Após atingir níveis de concentração plasmáticos máximos, o FSH começa diminuir até níveis basais. Durante o intervalo entre o início do declínio de FSH até o início da divergência, vários folículos contribuem para a diminuição nos níveis de FSH. Paradoxalmente, o declínio do FSH é causado pelos folículos que ainda continuam a precisar de FSH para seu crescimento (GINTHER et al., 2001). Estradiol e inibina-A e -B são os principais produtos foliculares responsáveis pela supressão do FSH. A inibina-A produzida por todos os pequenos folículos em crescimento da onda parece ser o supressor mais importante do FSH durante os dois primeiros dias da onda emergente, daí em diante o estradiol secretado pelo folículo dominante passa a ser o mais importante supressor do FSH (revisado por ADAMS & JAISWAL, 2008). Então, a partir do momento da divergência, somente o folículo dominante contribui para o declínio de FSH, mesmo dependendo deste hormônio para continuar seu crescimento. De acordo com GINTHER et al. (2001b), no início da divergência folicular ocorrem alterações no desenvolvimento do maior folículo que o tornam responsivo a baixas concentrações de FSH, as quais são inadequadas para o desenvolvimento dos outros folículos. O declínio transitório das concentrações de FSH, próximo ao momento da divergência, é considerado componente chave do mecanismo de divergência folicular (MIHM et al., 1997).

A expressão de receptores de LH em células da granulosa está associada à dominância folicular (BAO & GARVERICK, 1998). BEG et al. (2001) detectaram a expressão de RNAm do receptor de LH em maior concentração em futuros folículos dominantes comparados com seus subordinados antes do desvio folicular, o que os levou a sugerir que a expressão precoce do receptor de LH em células da granulosa seria um evento importante para a seleção

folicular, embora não esteja claro se o aumento observado na expressão do receptor de LH é a causa ou a consequência do processo de dominância (ADAMS & JAISWAL, 2008). Independentemente do papel do LH na divergência folicular, é sabido que este tem ação importante no crescimento e desenvolvimento do folículo dominante após a divergência.

O folículo ovulatório é formado a partir da última onda folicular do ciclo estral, sendo que folículos dominantes de ondas anteriores entram em processo de atresia. Esta atresia é determinada pela presença de um corpo lúteo ativo no ovário, com ampla produção de progesterona. Este hormônio exerce um efeito de retro-alimentação negativa no eixo sistema nervoso central - hipotálamo - hipófise - ovário, reduzindo a amplitude e frequência dos pulsos de LH, o que inviabiliza os processos de maturação final do folículo e ovulação (GINTHER et al., 1996). Já o crescimento do folículo dominante em ambiente com baixa concentração de progesterona promove o aumento das concentrações de estrógenos, que desencadeia o mecanismo de retroalimentação positiva para a secreção do GnRH e o consequente pico de LH, promovendo a ovulação (FORTUNE, 1993).

## **2.2. Importância do sistema IGF no processo de divergência folicular**

O exato mecanismo que diferencia e capacita um folículo a atravessar o processo de divergência, se tornando o dominante, ainda não está completamente compreendido. No entanto, acredita-se que o sistema IGF (fator de crescimento semelhante à insulina) exerça um dos papéis principais dentro deste processo, “hipersensibilizando” o futuro folículo dominante às ações das gonadotrofinas e impedindo que isso ocorra nos subordinados (SIQUEIRA, 2007).

Ao contrário dos subordinados, o folículo dominante é capaz de produzir estrógenos mesmo em baixas concentrações de gonadotrofinas. Aparentemente, a maior quantidade de IGF-I livre no líquido folicular no momento da divergência é o principal fator que lhe atribui tal capacidade (GINTHER et al., 2003), pois aumentaria sua sensibilidade ao FSH, permitindo a manutenção da esteroidogênese até que possa responder ao LH (SIQUEIRA, 2007). O folículo dominante em bovinos provavelmente será aquele que utilizar com sucesso ações recíprocas entre gonadotrofinas, IGF-I e estradiol visando estimular o seu crescimento e concomitantemente inibir o crescimento dos seus contemporâneos (SIQUEIRA, 2007).

O sistema de IGF's é composto por dois ligantes (IGF-1 e IGF-2), dois receptores (tipo 1 e tipo 2) e uma família de proteínas ligadoras de IGF (IGFBP-1, 2, 3, 4, 5 e 6; SPICER & ECHTERNKAMP, 1995). As atividades autócrinas e/ou parácrinas do IGF-1 e IGF-2

estimulam o crescimento celular, a síntese de estradiol e aumentam a sensibilidade das células da granulosa ao FSH (SPICER & ECHTERNKAMP, 1995; GINTHER et al., 2001).

Além do sistema IGF, mais recentemente, outros fatores de crescimento têm sido estudados, tais como, membros da superfamília do fator de crescimento transformante- $\beta$  (TGF $\beta$ ), fator de crescimento de diferenciação 9 (GDF9), fator ósseo morfogenético-15 (BMP-15) e membros da família do fator de crescimento fibroblástico (FGF; SUGIURA et al., 2007). Portanto, uma complexa interação de fatores autócrinos, parácrinos e endócrinos agem no processo de crescimento, divergência e dominância folicular, porém, estes mecanismos regulatórios ainda não estão completamente elucidados.

### **2.3. Sincronização de estro com Prostaglandina F $2\alpha$**

A PGF $2\alpha$  e seus análogos têm sido os agentes farmacológicos mais utilizados no tratamento para sincronização de estro em fêmeas bovinas (ODDE, 1990). O sucesso da sincronização de estro com PGF $2\alpha$  é dependente da presença de um CL, pois a função da PGF $2\alpha$  é provocar a regressão morfológica e funcional do CL (RATHBONE et al., 2001). Uma maior taxa de regressão do CL é obtida quando a PGF $2\alpha$  é administrada entre os dias seis e 17 do ciclo estral (VASCONCELOS, 1998). A PGF $2\alpha$  não induz efetivamente a luteólise durante os primeiros cinco ou seis dias após o estro. Acreditava-se que essa falta de responsividade do CL imaturo fosse devido a uma deficiência em número ou afinidade de receptores para a PGF $2\alpha$ , porém, foi demonstrada a presença de receptores com alta afinidade para PGF $2\alpha$  no CL a partir de dois dias após a ovulação. Foi observado então, que o CL maduro possui um sistema de *feedback* positivo que resulta na produção intraluteal de PGF $2\alpha$ , possibilitando a continuidade do processo luteolítico iniciado por uma única aplicação de PGF $2\alpha$  (WILTBANK, 1997).

Nas fêmeas em que se verifica efetivamente a luteólise, a ocorrência do estro é distribuída em um intervalo de mais de seis dias, o que torna impraticável a IATF em protocolos que utilizam apenas PGF $2\alpha$  (BÓ et al., 2002). A variação no intervalo entre a aplicação da PGF $2\alpha$  até o estro e a ovulação ocorre devido a diferenças no estágio de desenvolvimento das ondas foliculares no momento do tratamento (MAPLETOFT et al., 2000). Quando o tratamento é realizado na presença de um folículo dominante em fase final de crescimento ou no início da fase estática, a ovulação ocorre dentro de 3 a 4 dias. Por outro lado, se a PGF $2\alpha$  for aplicada quando o FD estiver no meio ou no final da fase estática, a ovulação ocorrerá cinco a sete dias depois, ou seja, após o desenvolvimento do FD da próxima onda folicular (KASTELIC & GINTHER, 1991). Portanto, a variabilidade no



intervalo entre o tratamento e a ovulação com a utilização da PGF2 $\alpha$  e seus análogos reforça a necessidade de controlar tanto o desenvolvimento luteal quanto folicular em protocolos cujo objetivo é a IATF.

#### **2.4. Sincronização de estro com o uso de progesterona ou progestágenos**

Desde os trabalhos iniciais de Christian e Casida, na década de 40, que demonstraram que injeções diárias de progesterona durante um período apropriado eram capazes de sincronizar o estro eficazmente, desenvolveram-se alternativas para permitir seu uso na prática (ALBERIO & BUTLER, 2001). Os tratamentos utilizados inicialmente com este fim incluíam longos períodos (12 a 14 dias) de administração de progesterona os quais possibilitavam uma boa sincronia dos estros e ovulações, porém associadas com fertilidade variável e, em geral, menor que a dos animais controle (ROCHE, 1974). O uso de tratamentos com essa duração tinha por objetivo superar a duração de um possível CL existente no ovário. A progesterona é eficiente pois inibe o estro, a ovulação e altera a dinâmica folicular, atuando sobre o hipotálamo e regulando a liberação de GnRH (PETERS et al., 1994; MIHM & AUSTIN, 2002) e, conseqüentemente, do LH. Assim, a administração de progesterona/progestágeno por um período suficiente para permitir a regressão natural do CL pode promover o estro sincronizado, uma vez que a supressão do tratamento progestacional leva à ocorrência do pico de LH e à ovulação (KESNER et al., 1982). Apesar de esses tratamentos serem efetivos para a sincronização do estro, a fertilidade deste estro é reduzida (ODDE, 1990). Isso ocorre porque os sistemas de liberação lenta de progesterona/progestágeno não mimetizam o CL em suprimir o LH. Na ausência de CL, tais tratamentos produzem concentrações subluteais de progesterona e permitem que os pulsos de LH aumentem até uma freqüência intermediária, o que prolonga o crescimento do folículo dominante (SIROIS & FORTUNE, 1990), resultando em baixas taxas de prenhez (MIHM et al., 1994; AUSTIN et al., 1999) devido à ovulação de ovócitos envelhecidos.

Posteriormente, a combinação desses tratamentos com benzoato de estradiol ou valerato de estradiol possibilitou a diminuição do tempo de exposição à progesterona. Esses tratamentos tinham por objetivo estender artificialmente a fase luteal (com o uso de progesterona/progestágeno) e iniciar uma luteólise antecipada (com o uso dos estrógenos) de maneira tal que, ao finalizar o tratamento com progesterona/progestágeno, iniciaria uma fase de proestro e se produziria estro e ovulação em dois a três dias (ALBERIO & BUTLER, 2001).

Quando administrado pouco tempo após a ovulação, o estradiol aparentemente age como antiluteotrófico (LEMON, 1975 *apud* DRIANCOURT, 2001), e quando administrado na presença de um CL ativo, geralmente é luteolítico, apesar da habilidade para induzir a regressão do CL ser mais limitada nos primeiros dias de atividade do CL (dias 3 a 5 pós-ovulação) do que mais tarde (PRATT et al., 1991). Falhas na regressão do CL pela ação do estradiol resultam em falhas na sincronização (DRIANCOURT, 2001).

Outra possibilidade de associar os tratamentos de curta duração com progesterona/progestágeno com um agente capaz de eliminar o CL surgiu com a disponibilidade comercial de análogos sintéticos da prostaglandina F2 $\alpha$  (ALBERIO & BUTLER, 2001). Em uma série de estudos realizados por SMITH et al. (1984) observou-se que tratamentos de 8 dias com progesterona/progestágeno finalizados com uma aplicação de PGF2 $\alpha$  produziam uma apropriada sincronia de estros para realizar IA e obter fertilidade normal em novilhas.

Os tratamentos estudados e utilizados até as décadas de 70 e 80 foram desenvolvidos sem o conhecimento dos padrões de desenvolvimento folicular. Somente com a intensificação do uso da ultra-sonografia como meio diagnóstico pode-se determinar com precisão o desenvolvimento das ondas foliculares. Observando-se tal padrão folicular, foi demonstrado que as altas doses de estradiol administradas nos tratamentos originais de sincronização de estro não somente produziam uma luteólise antecipada como também produziam mudanças nos padrões de desenvolvimento folicular (ALBERIO & BUTLER, 2001). BÓ et al. (1995) relataram que em bovinos que receberam implantes de progestágeno, a administração de 5 mg de 17 $\beta$ -estradiol promoveu a atresia da onda folicular presente e sincronizou a emergência de uma nova onda folicular  $4,3 \pm 0,2$  dias depois.

Os pesquisadores passaram a observar que combinando a regulação da fase folicular com a da fase luteal é possível obter um apropriado controle do ciclo estral com uma sincronia uniforme de estro e ovulação com fertilidade normal. Segundo DRIANCOURT (2001), eficientes protocolos de sincronização de estro precisam induzir a atresia dos maiores folículos presentes nos ovários independente do estágio de desenvolvimento, resultando no recrutamento de uma nova onda de crescimento folicular, desenvolvimento sincronizado de um novo folículo dominante em todas as fêmeas e a ovulação em momento pré-determinado. Esse objetivo tem sido alcançado com os protocolos de sincronização associando progestágenos, estradiol e prostaglandina, o que tem possibilitado um avanço no uso da IATF (BÓ et al., 2003b).

Os principais métodos de administração utilizados para a suplementação com progesterona/progestágeno são: esponjas vaginais impregnadas com acetato de medroxi-progesterona ou progesterona natural, administração de progestágenos no alimento, implantes subcutâneos com Norgestomet e dispositivos intravaginais de silicone com liberação lenta de progesterona (GREGORY, 2002; MORAES, 2002a). Dentro destes tratamentos, as esponjas vaginais foram os primeiros dispositivos desenvolvidos. Os resultados, quando se utiliza o MAP ou mesmo progesterona natural, são satisfatórios em termos de sincronização de estro e prenhez ao primeiro serviço (MORAES, 2002a).

Quanto aos estrógenos, diferentes tipos de ésteres de estradiol, incluindo BE, VE e ECP estão disponíveis comercialmente na América do Sul. Todos estes ésteres são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (BÓ et al., 1995). O estrógeno pode estimular ou inibir a liberação de gonadotrofinas, dependendo da dose e das concentrações sanguíneas de progesterona. Em doses fisiológicas e baixas concentrações de progesterona, o estrógeno estimula a liberação de LH para que ocorra a ovulação. Ao contrário, elevadas doses de estrógenos, na presença de elevadas concentrações de progesterona, bloqueiam as gonadotrofinas, inibindo principalmente a produção e liberação de LH. Além disso, o estrógeno é fundamental para a expressão de receptores para ocitocina no endométrio, o que é importante no processo de liberação de PGF $2\alpha$  para regressão do corpo lúteo (MORAES, 2002b).

A importância da utilização do estradiol ao início do protocolo de sincronização de estro consiste em suprimir o desenvolvimento folicular existente, através do aumento nas concentrações plasmáticas de estradiol que, por sua vez, ocasiona uma redução nas concentrações de FSH. Uma vez que as concentrações de estradiol declinam, uma sincronizada liberação de FSH e a emergência de uma nova onda de desenvolvimento folicular ocorrem (MARTINEZ et al., 2004).

Em uma investigação conduzida por MARTINEZ et al. (2005) que avaliou a administração de estradiol e progesterona em vacas ovariectomizadas tratadas com o implante vaginal CIDR, verificou-se a supressão na concentração plasmática das gonadotrofinas. A supressão da concentração de FSH persistiu durante o mesmo período em que os níveis de estradiol mantiveram-se elevados na circulação. Em vacas não-ovariectomizadas, o mesmo tratamento causou a regressão dos folículos FSH-dependentes (pelo estradiol) e dos folículos LH-dependentes (pela ação sinérgica do estradiol e progesterona), seguida da emergência de uma nova onda folicular logo após o aumento dos níveis de FSH. Neste trabalho, foram

utilizados diferentes estrogénos em cada grupo experimental: BE, estradiol na forma natural (17 $\beta$ -estradiol) e VE. Doses apropriadas de 17 $\beta$ -estradiol e BE foram eficientes na sincronização da emergência da onda folicular e da ovulação.

O tempo entre a administração de estradiol e o início da nova onda varia principalmente de acordo com a fonte e dose de estradiol utilizada, sendo este um fator importante a ser considerado quando se avalia a resposta obtida com a utilização de certos protocolos (BURKE et al., 2003). A variação no início da nova onda nos tratamentos com estradiol associado à progesterona pode, ao final do tratamento, induzir folículos de tamanho, maturidade, e capacidade esteroideogênica variáveis (VASCONCELOS et al., 1999). O controle adequado do desenvolvimento folicular minimiza a ovulação de folículos imaturos ou persistentes, influenciando assim, na porcentagem de animais efetivamente sincronizados.

## **2.5. Sincronização da ovulação**

Apesar dos protocolos de sincronização de estro que utilizam estradiol e progesterona/progestágeno serem efetivos em sincronizar os estros e as ovulações, estas são distribuídas em um intervalo de aproximadamente 48 horas, o que compromete os resultados de IATF. Por esse motivo, foram incorporados indutores da ovulação a esses protocolos. Os fármacos utilizados para a indução da ovulação agem por retroalimentação positiva na liberação pulsátil de LH (estrógenos e GnRH) ou agem diretamente nos receptores de LH das células da granulosa dos folículos (hCG e LH). Os indutores da ovulação quando administrados isoladamente não são capazes de sincronizar adequadamente a ovulação para IATF. No entanto, quando associados aos tratamentos com progesterona/progestágeno, estradiol e PGF2 $\alpha$ , induzem a ovulação sincronizada do folículo dominante presente no final do tratamento, possibilitando o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (BARUSELLI, 2004).

LAMMOGLIA et al. (1998) observaram que a administração de BE 24 a 30 horas após a retirada do implante de progesterona em vacas e novilhas resultou em um maior pico na concentração de 17 $\beta$ -estradiol, maior número de animais demonstrando estro, maior número de animais apresentando o pico pré-ovulatório de LH e reduziu o intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH. A aplicação de 0,5 a 1,0 mg de BE 24 horas após a retirada dos implantes de progesterona sincroniza o estro e a ovulação aumentando inclusive a porcentagem de fêmeas bovinas que ovulam após o tratamento (MACMILLAN, 1999).

O tratamento com BE promove a liberação de um pico de LH dentro de um intervalo de 16 a 30 horas (LAMMOGLIA et al., 1998). A administração de GnRH induz um pico de LH que se inicia logo após sua aplicação (em torno de 15 minutos). Da mesma forma, os fármacos que agem diretamente nos receptores de LH (hCG e LH) têm sua ação estabelecida logo após a absorção.

### 3. REFERÊNCIAS

- ADAMS, G.P. et al. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.94, p.177-188, 1992.
- ADAMS, G.P.; JAISWAL R. Dinâmica folicular em bovino: Visão geral da história e atualização. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36 (Supl.2), p.377-396, 2008.
- ALBERIO, R.H.; BUTLER, H. Sincronización de los celos em hembras receptoras. In: PALMA, G.A. Biotecnología de la Reproducción, **Reprobiotec**, Argentina, cap.5, p.61-77, 2001.
- AUSTIN, J.E. et al. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2219–2226, 1999.
- BAO, B.; GARVERICK, H.A. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1903-1921, 1998.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. In: **I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos**, Porto Alegre-RS. Anais, p. 41-60, 2002.
- BARUSELLI, P.S. Manual Prático de Inseminação Artificial em Tempo Fixo. Biogenesis Brasil, 56f, 2004.
- BEG, M.A., et al. Follicular-fluid factors and granulosa-cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. **Biology of Reproduction**, v.64, p.432-441, 2001.
- BÓ, G.A. et al. Exogenous control of follicular wave emergency in cattle. **Theriogenology**, v.43, p.31-40, 1995.
- BÓ, G.A. et al. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**, v.57, p.53-72, 2002.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTÍNEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003a.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; VENERANDA, G. Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. In: **XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría**, Paysandú, Uruguay, 2003. Anais, p. 31-40, 2003b.

- BURKE, C.R. et al. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. **Theriogenology**, v.60, p.647–658, 2003.
- CALLEJAS, S.S. Fisiología del ciclo estral bovino. In: PALMA, G.A. Biotecnología de la Reproducción. **Reprobiotec**, Argentina, cap.4, p.37-49, 2001.
- CUTAIA, L. et al. Inseminación artificial a tiempo fijo utilizando dispositivos intravaginales con progesterona: criterios para la elección del tratamiento y factores condicionantes. In: **2º Simpósio de Reprodução de Bovinos**, Porto Alegre-RS, p.28-40, 2003.
- DAHLEN, C.R. et al. Fixed-time insemination in peripuberal, lightweight replacement beef heifers after estrus synchronization with PGF2alpha and GnRH. **Theriogenology**, v.59, p.1827-1837, 2003.
- DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239, 2001.
- FORTUNE, J.E. Follicular dynamics the bovine estrous cycle: a limiting factor in improvement of fertility? **Animal Reproduction Science**, v.33, n.1-4, p.111-125, 1993.
- FORTUNE, J.E.; RIVERA, G.M.; YANG, M.Y. Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.109-126, 2004.
- GINTHER, O.J., KNOPF, L., KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 1989.
- GINTHER, O.J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-1194, 1996.
- GINTHER, O.J. et al. Follicle selection in monovular species. **Biology of Reproduction**, v.65, p.638- 647, 2001.
- GINTHER, O.J. et al. Role of low circulating FSH concentrations in controlling the interval to emergence of the subsequent follicular wave in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.124, p.475-482, 2002.
- GINTHER, O.J. et al. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.239-257, 2003.
- GREGORY, R.M. Métodos de sincronização de estros em bovinos. In: **I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos**, Porto Alegre, RS. Anais, p.18-24, 2002.
- KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. Factors affecting the original of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v.26, p.13-24, 1991.

KESNER, J.S.; PADMANABHAN, V.; CONVEY, E.M. Estradiol induces and progesterone inhibits the preovulatory surges of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v.26, p.571-578, 1982.

LAMMOGLIA, M.A. et al. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F<sub>2</sub>alpha. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1662-1670, 1998.

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

MACMILLAN, K.L. Pharmacological control of the oestrus cycle to improve the reproductive performance of cattle. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.61-64, 1999.

MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. Avanços na manipulação do ciclo estral de doadoras e receptoras nos programas de transferência de embriões em bovinos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v.28, p.24-51, 2000.

MARTINEZ, M.F.; BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. In: **1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina-PR. Anais, p. 26-55, 2004.

MARTINEZ, M.F. *et al.* Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37-52, 2005.

MIHM, M. et al. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.102, p.123-130, 1994.

MIHM, M. et al. Decline in serum follicle-stimulating hormone concentrations alters key intrafollicular growth factors involved in the selection of the dominant follicle in heifers. **Biology of Reproduction**, v.57, p.1328- 1337, 1997.

MIHM, M.; AUSTIN, E.J. The final stages of dominant follicle selection in the cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.155-166, 2002.

MORAES, J.C.F. Controle da reprodução em bovinos de corte. In: **I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos**, Porto Alegre-RS. Anais, p. 32-40, 2002a.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do Estro e da Ovulação em Bovinos e Ovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. Ed. Varela. São Paulo, 2002, cap.3, p.25-55, 2002b.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.817-830, 1990.



OLIVEIRA FILHO, B.D. et al. Estudo da involução uterina e do reinício da atividade folicular ovariana em vacas Canchim, com diferentes condições corporais ao parto. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.164-167, 1999.

PETERS K.E. et al. Luteinizing hormone has a role in development of fully functional corpora lutea (CL) but is not required to maintain CL function in heifers. **Biology of Reproduction**, v.51, p.1248-1254, 1994.

PINHEIRO, O.L. et al. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 $\alpha$  or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-681, 1998.

PRATT, S.L. et al. Luteal function, estrus response, and pregnancy rate after treatment with norgestomet and various dosages of estradiol valerate in suckled cows. **Journal of Animal Science**, v.69, p. 2721-2726, 1991.

RATHBONE, M.J. et al. Recent advance in bovine reproductive endocrinology and physiology and the impact on drug delivery system design for the control of the estrous cycle in cattle. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.50, p.277-320, 2001.

ROCHE, J.F. Synchronization of estrus and fertility following artificial insemination in heifers given Prostaglandin F2 $\alpha$ . **Journal of Reproduction and Fertility**, v.37, p.135-139, 1974.

SIQUEIRA, L.C. Esteróides no controle da regressão de folículos de diferentes diâmetros para uso em sistemas de inseminação artificial em tempo fixo de vacas de corte no pós-parto. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 77f, 2007.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Lengthening the bovine estrus cycle with low concentrations of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicle dominance. **Endocrinology**, v.127, p.916-925, 1990.

SMITH, R. et al. Insemination of Holstein heifers at a preset time after estrus cycle synchronization using progesterone and prostaglandin. **Journal of Animal Science**, v.58, p.792-800, 1984.

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.

SUGIURA, K. et al. Oocyte-derived BMP15 and FGFs cooperate to promote glycolysis in cumulus cells. **Development**, v.134, p.2593-2603, 2007.

VASCONCELOS, J.L.M. Avaliação da sincronização de ovulação e fatores relacionados com a produção de leite e taxa de concepção em vacas. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Julio Mesquita Filho", Jaboticabal, São Paulo, 116f, 1998.

VASCONCELOS, J.L.M. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, p.1067-1078, 1999.

WILTBANK, M.C. How information on hormonal regulation of the ovary has improved understanding of time breeding programs. In: **Annual Meeting of Society for Theriogenology**. Proceedings, p.83-97, 1997.

#### 4. ARTIGO

### DINÂMICA FOLICULAR DE VACAS DE CORTE TRATADAS COM TRÊS PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO

*Ovarian follicular dynamics in beef cows treated with three protocols of synchronization of ovulation*

L.C. Melo , R.M. Gregory, A. Beskow, R.C. Mattos , M.I.M. Jobim e J.W. Gregory.

Laboratório de Reprodução Animal - REPROLAB, FAVET, UFRGS.  
Av. Bento Gonçalves 9090, Porto Alegre – RS 90540-000

#### Resumo

Este trabalho teve por objetivo avaliar a dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com protocolos para a sincronização da ovulação onde se utilizou implantes vaginais impregnados com progesterona ou com acetato de medroxi-progesterona e um implante auricular impregnado com norgestomet, além da utilização de ésteres de estradiol em diferentes doses. Foram utilizadas nove vacas Braford, multíparas, não-lactantes, cíclicas e com  $CC \geq 3$ . Os animais foram mantidos confinados e alimentados com feno e ração. Os animais foram divididos em três tratamentos, sendo que todos os animais passaram pelos três tratamentos em quatro repetições. Em cada repetição os animais foram divididos entre os grupos de forma homogênea. No grupo 1 ( $n = 14$ ), os animais receberam no dia 0, uma esponja vaginal impregnada com 250 mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP) e uma aplicação intramuscular (i.m.) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE); no dia 8, a esponja vaginal foi retirada e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol e 24 horas após foi aplicado i.m. 1 mg de BE. No grupo 2 ( $n = 7$ ), os animais receberam no dia 0, um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona e uma aplicação i.m. de 2 mg de BE; no dia 8, o implante foi retirado e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol e 24 horas após foi aplicado i.m. 1 mg de BE. No grupo 3 ( $n = 8$ ), os animais receberam no dia 0, um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de Norgestomet e uma aplicação i.m. de 3 mg de Norgestomet e 5 mg de Valerato de Estradiol (VE); no dia 9 o implante auricular foi retirado. Os animais foram examinados diariamente por via trans-retal com um ultra-som equipado com um transdutor linear de 8 MHz para monitorar a dinâmica folicular e luteal nos ovários. Após a retirada do implante auricular no grupo 3 e após a aplicação de 1 mg de BE nos grupos 1 e 2, os animais foram avaliados por ultra-sonografia duas vezes por dia até que a ovulação fosse detectada. No grupo 1, sete animais perderam a esponja vaginal impregnada com MAP e os dados foram retirados das análises. Os três tratamentos foram eficientes em promover uma nova onda de crescimento folicular sincronizada em  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  e  $4,9 \pm 1,1$  dias ( $P = 0,059$ ) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Além de promover a ovulação de um folículo dominante com poucos dias de dominância e com diâmetro satisfatório em  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  e  $70,5 \pm 12,7$  horas após a retirada do implante ( $P = 0,62$ ) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente. Portanto, os três protocolos foram eficientes em promover a sincronização da ovulação e são

indicados para utilização em programas de inseminação artificial a tempo fixo em vacas de corte.

**Palavras Chave:** vacas de corte, sincronização da ovulação, progesterona, MAP, norgestomet, benzoato de estradiol, valerato de estradiol.

### Abstract

*This experiment was done to evaluate the ovarian follicular dynamics in beef cows treated with protocols of synchronization of ovulation where were used vaginal implants impregnated with progesterone or with medroxi-progesterone acetate and an ear implant impregnated with norgestomet, than the use of estradiol esters in different doses. Nine Braford cows, multiparous non-lactating, cyclic and  $BCS \geq 3$  where used in these trial. The animals were kept confined and fed with hay and concentrated. The animals were divided into three treatments, which all animals went for three treatments in four replicates. In each replicate the animals were divided among groups homogeneously. Group 1 ( $n = 14$ ), animals received on day 0, a vaginal sponge impregnated with 250 mg medroxi-progesterone acetate (MPA) and an intramuscular (i.m.) application of 2 mg of estradiol benzoate (EB); on day 8, the vaginal sponge was removed and applied i.m. 0.5 mg cloprostenol and 24 hours latter was applied i.m. 1 mg of EB. Group 2 ( $n = 7$ ), the animals received on day 0, a silicone vaginal implant with 1 g of progesterone and an application i.m. of 2 mg of EB; on day 8, the implant was removed and applied i.m. 0.5 mg cloprostenol and 24 hours latter was applied i.m. 1 mg of EB. Group 3 ( $n = 8$ ), the animals received on day 0, a silicone ear implant impregnated with 3 mg norgestomet and an application i.m. of 3 mg norgestomet and 5 mg of estradiol valerate; on the 9th day the implant was removed. From day 0, animals were examined daily by trans-rectal ultrasound with an 8 MHz linear transducer to monitor follicular and luteal dynamics. After removal of the implant in group 3 and after application of 1 mg EB in the other groups, the animals were evaluated by ultrasound two times per day until ovulation was detected. In group 1, seven animals lost a vaginal sponge impregnated with MAP and the data were removed from analysis. The three treatments groups were effective in promoting a new follicular wave emergence synchronously in  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  and  $4,9 \pm 1,1$  days ( $P = 0,059$ ) in the groups 1, 2 and 3, respectively. Besides promoting ovulation a dominant follicle with few days of dominance and with satisfactory diameter in  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  and  $70,5 \pm 12,7$  hours after implant removal ( $P = 0,62$ ) in the groups 1, 2 and 3, respectively. Therefore, the three protocols were effective in promoting the synchronization of ovulation and are indicated for use in fixed-time artificial insemination programs in beef cows.*

**Keywords:** beef cows, synchronization of ovulation, progesterone, MPA, norgestomet, estradiol benzoate, estradiol valerate.

### Introdução

A inseminação artificial é uma técnica consagrada e viável para acelerar o avanço genético e o retorno econômico da bovinocultura. Entretanto, em todo o mundo, existem relatos que indicam a baixa taxa de serviços em bovinos, devido principalmente, a comprometimentos na eficiência da detecção de estro. Este problema é ainda mais destacado em rebanhos *Bos indicus* ou suas cruzas, devido às particularidades no comportamento reprodutivo, como estro de curta duração com elevada porcentagem de manifestação noturna (BARUSELLI & MARQUES, 2002).

Para evitar os problemas da detecção de estro em rebanhos de cria, foram desenvolvidos protocolos de sincronização que permitem inseminar um grande número de animais num período de tempo estabelecido. Estes tratamentos são conhecidos como protocolos de inseminação artificial a tempo fixo (IATF), e se dividem entre os que utilizam combinações de GnRH e PGF2 $\alpha$ , e os que utilizam dispositivos com progesterona ou progestágenos e estradiol (BARUSELLI & MARQUES, 2002).

Segundo DRIANCOURT (2001), eficientes protocolos de sincronização de estro precisam induzir a atresia dos maiores folículos presentes nos ovários independente do estágio de desenvolvimento, resultando no recrutamento de uma nova onda de crescimento folicular, desenvolvimento sincronizado de um novo folículo dominante em todas as fêmeas e a ovulação em momento pré-determinado. Esse objetivo tem sido alcançado com os protocolos de sincronização associando progestágenos, estradiol e prostaglandina, o que tem possibilitado um avanço no uso da IATF (BÓ et al., 2003).

Apesar da eficiência dos protocolos de sincronização de estro e ovulação para IATF, um dos entraves para uma maior adesão dos proprietários é o alto custo destes, sendo a esponja vaginal impregnada com MAP uma opção mais barata aos implantes de progesterona/progestágeno presentes no mercado, o que reduz substancialmente o custo do protocolo.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. Nesses protocolos foram utilizados dois implantes comerciais de liberação lenta de progesterona/progestágeno (Primer® - Progesterona natural e Crestar® - Norgestomet) e a esponja vaginal impregnada com acetato de medroxi-progesterona produzida pelo laboratório de reprodução animal – Reprolab – UFRGS.

## **Material e Métodos**

O experimento foi realizado na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

Foram utilizadas nove vacas Braford, múltíparas, não-lactantes, cíclicas e com CC  $\geq 3$  (onde CC 1 corresponde a vacas extremamente magras e CC 5 vacas obesas). Os animais foram mantidos confinados e alimentados com feno e ração.

Os animais foram divididos em três tratamentos, sendo que todos os animais passaram pelos três tratamentos em quatro repetições. Em cada repetição os animais foram divididos entre os grupos de forma homogênea.

No grupo 1 (n = 14), os animais receberam no dia 0, uma esponja de poliuretano impregnada com 250 mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP) depositada no interior da vagina e uma aplicação intramuscular (i.m.) de 2 mg de benzoato de estradiol (BE; Estrogin® – Farmavet). No dia 8, a esponja vaginal foi retirada e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol (Sincrocio® – Ouro Fino) e 24 horas após foi aplicado i.m. 1 mg de BE (Estrogin® – Farmavet). Neste grupo, sete animais perderam a esponja vaginal impregnada com MAP. Este protocolo tem um custo de aproximadamente R\$ 12 por animal.

No grupo 2 (n = 7), os animais receberam no dia 0, um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona (Primer® – Tecnopec) e uma aplicação i.m. de 2 mg de BE (Estrogin® – Farmavet). No dia 8, o implante vaginal foi retirado e aplicado i.m. 0,5 mg de Cloprostenol (Sincrocio® – Ouro Fino) e 24 horas após foi aplicado i.m. 1 mg de BE (Estrogin® – Farmavet). Este protocolo tem um custo de aproximadamente R\$ 28 por animal.

No grupo 3 (n = 8), os animais receberam no dia 0, um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de Norgestomet (Crestar® – Intervet) e uma aplicação i.m. de 3 mg de Norgestomet e 5 mg de Valerato de Estradiol (Crestar® – Intervet). No dia 9 o implante auricular foi retirado. Este protocolo tem um custo de aproximadamente R\$ 25 por animal.

A partir do dia 0, os animais foram examinados diariamente (24/24 horas) por via trans-retal com o auxílio de um ultra-som (Scanner Falco 100 Vet® - Pie Medical) equipado com um transdutor linear de 8 MHz com o objetivo de monitorar a dinâmica folicular nos ovários. As estruturas ovarianas (folículos  $\geq 4$  mm e corpos lúteos) foram mapeadas e mensuradas. Após a aplicação de 1 mg de BE nos grupos 1 e 2 e após a retirada do implante auricular no grupo 3, os animais foram avaliados por ultra-sonografia 2 vezes por dia (12/12 horas) até que a ovulação fosse detectada.

O dia da emergência da onda de desenvolvimento folicular foi identificado como o dia em que o folículo dominante apresentou, retrospectivamente, diâmetro de 4-5 mm. O momento da ovulação foi observado quando o folículo dominante com mais de 10 mm de diâmetro desapareceu entre duas avaliações ultra-sonográficas. Como essas avaliações foram realizadas em intervalos de 12 horas, estabeleceu-se a média desse intervalo como o momento da ovulação.

### **Análise Estatística**

A análise estatística foi realizada no programa SPSS® para Windows versão 13. Foram utilizadas estatísticas descritivas e análise de variância (ANOVA) para avaliação dos resultados. O nível de significância utilizado para rejeitar a hipótese de nulidade foi de 5%.

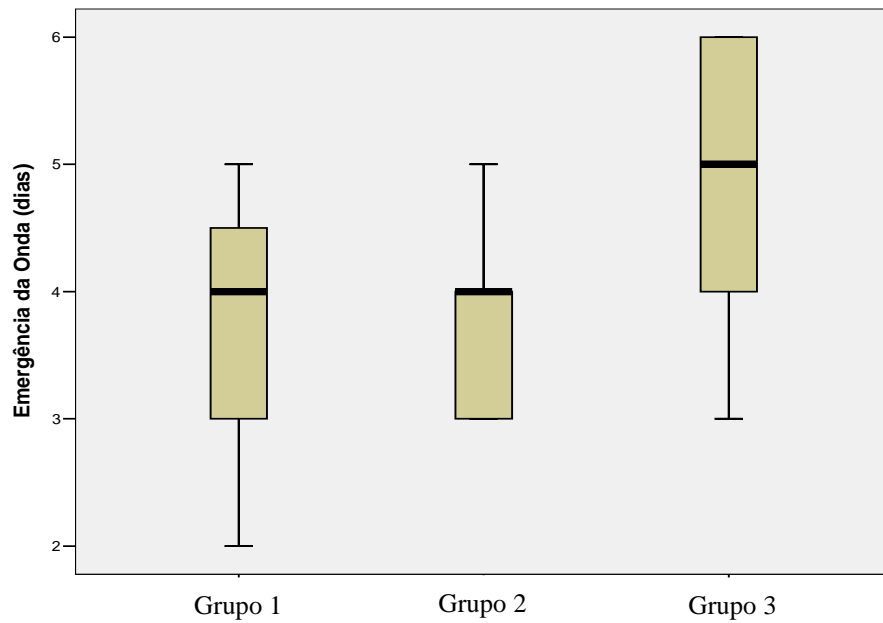


Figura 1. Box e whisker plots para o dia da emergência da onda em vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. As caixas abrangem 50% dos dados e são seccionadas por uma linha que corresponde à média. As linhas verticais indicam a variação dos dados. No grupo 1, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 2, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 3, os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado

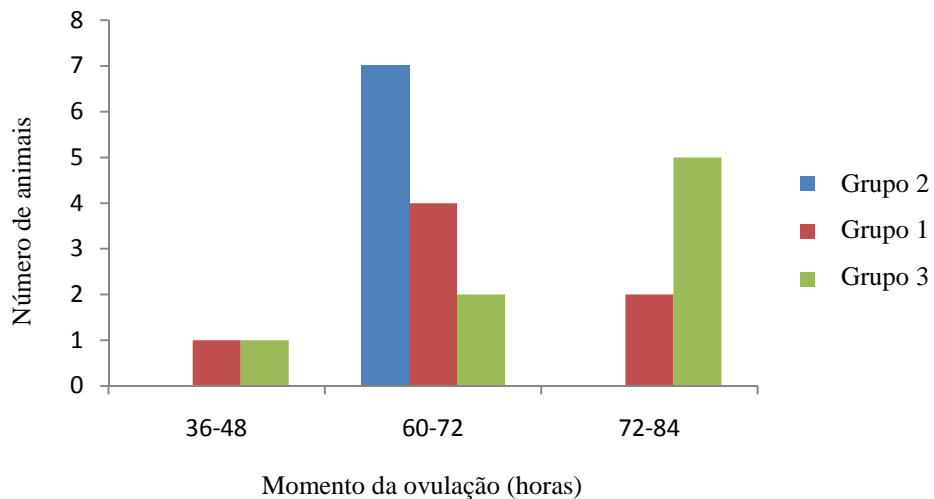


Figura 2. Momento da ovulação (horas) após a retirada do implante de progesterona/progestágeno em vacas de corte tratadas com três protocolos de sincronização da ovulação. No grupo 1, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 2, os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m. No grupo 3, os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado

Tabela 1. Resultados da dinâmica folicular e luteal de vacas de corte tratadas com três protocolos para a sincronização da ovulação

	<b>Grupo 1<sup>a</sup></b>	<b>Grupo 2<sup>b</sup></b>	<b>Grupo 3<sup>c</sup></b>
Número de animais	7	7	8
Emergência da onda (dias)			
Média ± DP	3,7 ± 1,1	3,7 ± 0,7	4,9 ± 1,1
Variação	2 - 5	3 - 5	3 - 6
Intervalo entre emergência da onda e ovulação (dias)			
Média ± DP	7,4 ± 0,9	7,3 ± 0,7	7,6 ± 1,3
Variação	6 - 9	6 - 8	6 - 10
Intervalo entre retirada do implante e ovulação (horas)			
Média ± DP	66 ± 12	66 ± 0	70,5 ± 12,7
Variação	36 - 84	60 - 72	36 - 84
Diâmetro FD na retirada do implante (mm)			
Média ± DP	10,9 ± 2,6	12,7 ± 2,1	10,3 ± 2,1
Maior diâmetro FD (mm)			
Média ± DP	15,3 ± 2,9	16,6 ± 1,3	15,9 ± 1,5
Diâmetro FD logo antes da ovulação (mm)			
Média ± DP	15,3 ± 2,9	15,9 ± 1,4	15,4 ± 2,1
Crescimento FD (mm/dia)			
Média ± DP	1,6 ± 0,3	1,8 ± 0,3	1,7 ± 0,2
Diâmetro CL no D0 (mm)			
Média ± DP	22,4 ± 4,9	19,3 ± 9,1	21,1 ± 3,1
Diâmetro do CL no dia da retirada do implante (mm)			
Média ± DP	12,9 ± 6,6	12,9 ± 7,8	10,8 ± 6,8

<sup>a</sup> Os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal impregnado com 250 mg de MAP no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m.

<sup>b</sup> Os animais receberam 2 mg de BE i.m. e um implante vaginal de silicone impregnado com 1 g de progesterona no dia 0, no dia 8 o implante foi retirado e administrado 0,5 mg de cloprostenol i.m. e 24 horas após foi administrado 1 mg de BE i.m.

<sup>c</sup> Os animais receberam 3 mg de norgestomet + 5 mg de VE i.m. e um implante auricular de silicone impregnado com 3 mg de norgestomet no dia 0, no dia 9 o implante foi retirado.



## Resultados

Uma vaca apresentou CC 2,5 e anestro; outra vaca teve o reto lesionado na segunda rodada, sendo as duas retiradas do experimento. Sete vacas perderam a esponja vaginal impregnada com MAP no grupo 1 e os dados foram excluídos das análises.

A emergência da onda folicular para os grupos 1, 2 e 3 ocorreu, respectivamente, em  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  e  $4,9 \pm 1,1$  dias, havendo uma tendência estatística ( $P < 0,06$ ) de ocorrer mais cedo nos grupos 1 e 2 que no 3 (Fig. 1). Não houve diferença estatística para os grupos 1, 2 e 3 no intervalo entre emergência da onda e ovulação,  $7,4 \pm 0,9$ ,  $7,3 \pm 0,7$  e  $7,6 \pm 1,3$  dias ( $P = 0,82$ ); no intervalo entre a retirada do implante e ovulação,  $66 \pm 12$ ,  $66 \pm 0$  e  $70,5 \pm 12,7$  horas ( $P=0,62$ ; Figura 2); no diâmetro do folículo dominante (FD) na retirada do implante,  $10,9 \pm 2,6$ ,  $12,7 \pm 2,1$  e  $10,3 \pm 2,1$  mm ( $P = 0,13$ ); no maior diâmetro do FD,  $15,3 \pm 2,9$ ,  $16,6 \pm 1,3$  e  $15,9 \pm 1,5$  mm ( $P = 0,49$ ); no diâmetro do FD logo antes da ovulação,  $15,3 \pm 2,9$ ,  $15,9 \pm 1,4$  e  $15,4 \pm 2,1$  mm ( $P = 0,83$ ); no crescimento do FD,  $1,6 \pm 0,3$ ,  $1,8 \pm 0,3$  e  $1,7 \pm 0,2$  mm/dia ( $P = 0,22$ ); no diâmetro do corpo lúteo (CL) no dia zero,  $22,4 \pm 4,9$ ,  $19,3 \pm 9,1$  e  $21,1 \pm 3,1$  mm ( $P=0,66$ ); e no diâmetro do CL no dia da retirada do implante,  $12,9 \pm 6,6$ ,  $12,9 \pm 7,8$  e  $10,8 \pm 6,8$  mm ( $P = 0,8$ ), respectivamente. Os resultados estão apresentados na tabela 1.

## Discussão

A emergência da onda folicular para os grupos 1, 2 e 3 ocorreu, respectivamente, em  $3,7 \pm 1,1$ ,  $3,7 \pm 0,7$  e  $4,9 \pm 1,1$  dias, havendo uma tendência estatística ( $P < 0,06$ ) de ocorrer mais cedo nos grupos 1 e 2 que no grupo 3. Os resultados dos grupos 1 e 2, onde se utilizou 2 mg de BE ao início do tratamento, estão de acordo com os achados de BRIDGES et al. (1999), onde se obteve com a administração de 2 mg de BE no momento da inserção de um implante vaginal impregnado com progesterona, a emergência de uma nova onda folicular em  $3,9 \pm 0,6$  dias. MORENO et al. (2001) obtiveram com a aplicação de 2 mg de BE + 50 mg de progesterona no dia da colocação de um implante vaginal contendo progesterona, a emergência de uma nova onda folicular em  $4,0 \pm 0,2$  dias. Da mesma forma, CARVALHO (2004) obteve com a aplicação de 2 mg de BE no dia da colocação de um implante de progesterona, a emergência de uma nova onda folicular em  $3,5 \pm 0,1$  dias em novilhas. Já MAPLETOFT et al. (1999) utilizando 5mg de VE + 3 mg de norgestomet aplicados no dia da inserção do implante contendo norgestomet (mesmo tratamento do grupo 3) obtiveram a emergência da onda folicular em  $5,7 \pm 0,2$  dias, corroborando com os resultados do grupo 3. Também com resultados semelhantes, COLAZO et al. (2005) obtiveram com a utilização de 5

mg de VE administrado no dia da colocação do implante vaginal CIDR, a emergência da onda em  $4,8 \pm 1,2$  dias, já nos animais que receberam 2 mg de VE, a emergência da onda ocorreu em  $3,4 \pm 0,8$  dias. Quando COLAZO et al. (2005) compararam a utilização de 5 mg de  $17\beta$ -estradiol + 100 mg progesterona (T1) ou 5 mg de valerato de estradiol + 3 mg de norgestomet (T2) em novilhas de corte tratadas com um implante de norgestomet, observaram que a emergência da onda folicular ocorreu mais cedo e o intervalo foi menos variável nas novilhas do T1 ( $3,6 \pm 0,5$  dias) do que nas novilhas do T2 ( $5,7 \pm 1,5$  dias). Já CACCIA & BÓ (1998), avaliando diferentes doses de BE, observaram que o grupo de vacas que recebeu 2,5 mg de BE + 50 mg de progesterona no dia da colocação do implante CIDR, teve a emergência da onda folicular mais sincronizada ( $4,0 \pm 0,1$  dias, variação de 3 a 4 dias) do que o grupo que recebeu 5 mg de BE + 50 mg de progesterona ( $4,0 \pm 0,8$  dias, variação de 2 a 5 dias).

O intervalo entre o tratamento com estradiol e a emergência da onda folicular depende do aumento dos níveis de FSH, o qual ocorre, como tem sido demonstrado, após as concentrações de estradiol diminuírem até níveis basais (O'ROURKE et al., 2000). CAVALIERI et al. (2003), utilizando 2 mg de BE no início do tratamento com CIDR, observaram um aumento nas concentrações de estradiol entre os dias 0,5 e 4. Nas vacas tratadas com BE, a concentração de estradiol no plasma atingiu o pico entre 0,5 e 1 dia após a administração e foi gradualmente diminuindo, mas ainda foi maior do que nas vacas não tratadas com BE até o dia 4. As concentrações de FSH foram menores nas vacas tratadas com BE entre os dias 0,5 e 2 e entre os dias 2 e 4. As baixas concentrações de FSH nas vacas tratadas com BE corresponderam ao período em que as concentrações de estradiol mantiveram-se elevadas. O aumento nas concentrações de FSH foi detectado  $0,17 \pm 0,33$  dias antes da emergência da onda ser observada.

Em estudo realizado por MARTINEZ et al. (2005), o padrão de concentração plasmática de estradiol em vacas ovariectomizadas tratadas com o implante vaginal CIDR foi dependente da formulação de estradiol utilizada ao início do tratamento. A concentração de estradiol atingiu o pico em 12 horas nos animais tratados com 5 mg de  $17\beta$ -estradiol, retornando até níveis basais em aproximadamente 36 horas, sendo que nos animais tratados com 5 mg de BE ou VE o pico de concentração ocorreu entre 12 e 24 horas e a concentração atingiu níveis basais aproximadamente 96 horas pós-tratamento. Em estudo realizado por LARSON & KIRACOFÉ (1995), novilhas ovariectomizadas que receberam um implante auricular contendo norgestomet e receberam 5 mg de VE tiveram o pico de concentração de estradiol em 12 horas, com o decréscimo até níveis basais em aproximadamente 10 dias, observando-se o comportamento de estro logo após a remoção do implante no dia 9. No

experimento de MARTINEZ et al. (2005), cinco das seis vacas ovariectomizadas que receberam 5 mg de VE demonstraram estro após a remoção do implante, comprovando sua meia-vida longa na circulação. A supressão da concentração de FSH persistiu durante o mesmo período em que os níveis de estradiol mantiveram-se elevados na circulação. A concentração plasmática de FSH aumentou mais cedo (60 horas) e foi mais alta ( $>3$  ng/mL) no grupo tratado com 5 mg de  $17\beta$ -estradiol do que nos grupos tratados com 5 mg de BE ou VE (96 horas e  $<3$  ng/mL). Em vacas não-ovariectomizadas, o mesmo tratamento causou a regressão dos folículos FSH-dependentes (pelo estradiol) e dos folículos LH-dependentes (pela ação sinérgica do estradiol e progesterona), seguida da emergência de uma nova onda folicular logo após o aumento dos níveis de FSH. Esses resultados explicam a demora na emergência de uma nova onda folicular em vacas não-ovariectomizadas que recebem 5 mg de BE ou VE comparadas com vacas tratadas com 5 mg de  $17\beta$ -estradiol. Isso ocorre porque ésteres de estradiol são absorvidos muito lentamente após administração intramuscular. A longa cadeia esterificada e a baixa solubilidade em água resultam em um longo intervalo necessário para o estradiol ser absorvido (COLAZO et al., 2005). Porém, de acordo com os resultados observados na literatura (CACCIA & BÓ, 1998; COLAZO et al., 2005), doses reduzidas de ésteres de estradiol são tão eficientes em promover uma emergência de onda mais cedo e mais sincronizada que a dose de 5 mg de  $17\beta$ -estradiol. Já MARTINEZ et al. (2005) obteve uma variação considerável (2 a 6 dias) na emergência da onda folicular em vacas tratadas com 1 mg de BE um dia após a inserção do implante CIDR.

No presente estudo, a dose de 2 mg de BE promoveu a emergência da onda folicular nos grupos 1 e 2 com uma tendência de ocorrer mais cedo que no grupo 3, onde se utilizou 5 mg de VE. Provavelmente, se o número de animais por tratamento fosse maior, se confirmaria a diferença estatística, o que estaria de acordo com os resultados de trabalhos anteriores. Quanto à sincronia na emergência da onda, o grupo 2 apresentou a menor variação (ocorreu entre os dias 3 e 5 do tratamento), enquanto que no grupo 1 (entre os dias 2 e 5) e no grupo 3 (entre os dias 3 e 6) a variação foi maior. A menor sincronia na emergência da onda folicular nos grupos 1 e 3 resultaram em variações no momento da ovulação, apesar de não haver diferença estatística.

Diversos trabalhos (CACCIA & BÓ, 1998; MORENO et al., 2001) utilizaram uma dose de progesterona administrada por via intramuscular, concomitantemente à administração de estradiol ao início do tratamento de sincronização de estro/ovulação. BÓ et al. (1994) sugeriram que tal procedimento poderia aumentar a eficiência na sincronização da emergência da onda folicular e, portanto, atingir melhores resultados de prenhez após IATF.

MAPLETOFT et al. (2003) testaram em vacas de corte com cria ao pé e tratadas com o implante vaginal CIDR (n=175), os efeitos da administração de 2 mg de BE, ou 2 mg de BE + 100 mg de progesterona no dia da colocação do implante. Nos dois grupos o implante foi retirado no dia 7 seguido da administração de PGF2 $\alpha$ . No dia 8 (24 horas após a retirada do implante) foi administrado 1 mg de BE e no dia 9 os animais foram inseminados (com as inseminações iniciando 28 horas após a administração de BE). A taxa de prenhez total após IATF foi de 67%, não havendo diferença estatística entre os grupos. CAVALIERI et al. (2003) também observaram que a combinação de progesterona e BE, administrada por via intramuscular no momento da colocação de um implante vaginal impregnado com progesterona, não provocou alterações significativas no padrão de desenvolvimento folicular comparada com o tratamento utilizando apenas BE. Portanto, foi demonstrado que a aplicação de progesterona concomitantemente ao BE no início do tratamento não se faz necessário.

No presente estudo, observou-se a redução no diâmetro do CL entre o dia 0 e o dia da retirada do implante. Apesar de os animais estarem em dias aleatórios do ciclo estral e alguns possivelmente terem tido regressão espontânea do CL, em outros a diminuição deve ter ocorrido pela administração de estrógenos no início do tratamento. Os estrógenos estão envolvidos no processo natural de luteólise, e o efeito luteolítico pela administração de estrógenos exógenos ocorre, como tem sido demonstrado, pelo estímulo na liberação uterina de PGF2 $\alpha$  (HIXON et al., 1983; PETERSON et al., 2000). PETERSON et al. (2000) observou em animais tratados com um implante de norgestomet e a aplicação de 3 mg de norgestomet + 5 mg de valerato de estradiol nos dias 8 ou 9 do ciclo estral, a redução nas concentrações de progesterona para menos de 0,75 ng/mL em 100% dos animais 8 dias após o tratamento. Já nos animais do grupo controle (sem tratamento), nenhum apresentou níveis de progesterona menores que 0,75 ng/mL no mesmo período, demonstrando o efeito luteolítico do VE. Já BURKE et al. (2000) observaram em animais tratados com 1 mg de BE no dia 13 do ciclo estral, que as concentrações de progesterona diminuíram entre 24 e 48 horas após o tratamento (-3,2 ng/mL) comparadas com pequenas variações nos animais controle (sem tratamento) durante o mesmo período. Essas diferenças coincidiram com a regressão mais cedo do CL no grupo tratado. A média diária de diâmetro do CL não diferiu entre os grupos entre os dias 7 e 17, porém foi menor no grupo tratado entre os dias 18 e 21 do ciclo estral. O estrógeno é um componente integral do processo normal de luteólise (SILVIA et al., 1991) e é utilizado como agente luteolítico/antiluteotrófico no protocolo CRESTAR.

No mesmo trabalho de BURKE et al. (2000), os animais que receberam 1 mg de BE no dia 13 do ciclo estral tiveram um folículo de maior diâmetro entre 4 e 5 dias após a

emergência da terceira onda folicular que os animais não tratados, demonstrando uma maior taxa de crescimento durante o desenvolvimento. Isso pode ser consequência da baixa concentração de progesterona nos animais tratados devido à regressão prematura do CL, o que resulta em uma maior frequência dos pulsos de LH (BERGFELD et al., 1996). No presente estudo, as taxas de crescimento do FD ( $1,6 \pm 0,3$ ,  $1,8 \pm 0,3$  e  $1,7 \pm 0,2$  mm/dia) nos grupos 1, 2 e 3, respectivamente, foram altas em comparação com a taxa de crescimento do folículo dominante da onda ovulatória de um ciclo estral normal ( $1,2 \pm 0,1$  mm/dia; GINTHER et al., 1989), sendo o aumento na frequência dos pulsos de LH pela diminuição nos níveis de progesterona uma justificativa para tal resultado.

LAMMOGLIA et al. (1998) observaram que a administração de BE 24 a 30 horas após a retirada do implante de progesterona em vacas e novilhas resultou em um maior pico na concentração de  $17\beta$ -estradiol, maior número de animais demonstrando estro, maior número de animais apresentando o pico pré-ovulatório de LH e reduziu o intervalo entre a retirada do implante e o pico de LH. A aplicação de 0,5 a 1,0 mg de BE 24 horas após a retirada dos implantes de progesterona sincroniza o estro e a ovulação aumentando inclusive a porcentagem de fêmeas bovinas que ovulam após o tratamento (MACMILLAN, 1999). Portanto, o uso de um indutor da ovulação após a retirada do implante de progesterona, como foi realizado nos grupos 1 e 2 onde se utilizou 1 mg de BE, só vem a auxiliar nos índices de sucesso de programas de sincronização de estro para IATF. Porém, o uso de um implante com liberação homogênea de progesterona por período adequado e a sincronia na emergência da onda são aspectos fundamentais para que o indutor da ovulação exerça seu papel na sincronia da ovulação.

No grupo 1, um animal teve ovulação precoce (ocorrendo entre 36 e 48 horas após a retirada do implante). Esse animal teve a emergência da onda no segundo dia do tratamento e apresentava diâmetro de 15,1 mm no dia da retirada do MAP. A diminuição das concentrações de progesterona após a retirada do implante aliada à produção de estrógeno pelo folículo com mais de 15 mm de diâmetro deve ter induzido o pico pré-ovulatório de LH antes da administração do BE, levando à ovulação antes do momento esperado.

Com relação ao grupo 3, a menor sincronia no momento da ovulação deve ter sido devido à variação na emergência da onda folicular pela administração de 5 mg de VE ao início do tratamento, aliada a não utilização de um indutor da ovulação após a retirada do implante, sendo o pico pré-ovulatório de LH dependente da produção de estrógeno pelo FD. AUSTIN et al. (1999) observaram que as concentrações de estradiol em novilhas com um FD

com mais de 4 dias de dominância são maiores no final do tratamento com progesterona/progestágeno e a duração da fase folicular subsequente é menor, com o início do estro ocorrendo antes do que em novilhas com um FD de 2 a 3 dias de dominância.

Apesar dos grupos 1 e 3 terem apresentado um animal com ovulação precoce (entre 36 e 48 horas após a retirada do implante), nos outros animais as ovulações ocorreram entre 60 e 84 horas, o que demonstra o alto grau de sincronia promovido por tais protocolos. Se os animais fossem inseminados entre 52 e 56 horas após a retirada do implante, como recomendado por CUTAIA et al. (2003), provavelmente apresentariam bons resultados de fertilidade.

MORAES & JAUME (1997) utilizando esponjas vaginais impregnadas com MAP em vacas criadas sob condições extensivas observaram 15% de perda do implante. Da mesma forma, BASTOS et al. (2004) observaram a perda de 12,7% em vacas tratadas com tal implante sob as mesmas condições. Perdas de até 15% são consideradas aceitáveis em um grupo de animais submetidos à sincronização de estro/ovulação utilizando esponjas vaginais. No presente estudo, a perda do MAP ocorreu em 50% (7/14) das vacas tratadas com o implante e deve ter ocorrido, provavelmente, pela condição de confinamento em que as vacas se encontravam, sendo que as mesmas permaneciam grande parte do tempo deitadas, o que pode ter facilitado a expulsão do implante localizado no interior da vagina. Além disso, em se tratando de animais com genótipo “azebuado”, existe a tendência de conformação vulvar mais larga em relação ao genótipo europeu, o que pode ter facilitado a perda do dispositivo. Nenhum animal dos grupos 2 e 3 perdeu o implante durante o tratamento.

BRIDGES et al. (1999) observaram a perda de implantes vaginais impregnados com progesterona em 3% dos animais criados extensivamente, já nos animais em regime de confinamento, a perda foi de 9,6%. Segundo BRIDGES et al. (1999), as características de criação em relação ao comportamento animal, densidade populacional e talvez o tipo e frequência de alimentação podem influenciar na retenção dos implantes e, portanto, na aplicabilidade desse tipo de implante para a sincronização de estro.

Portanto, nas condições de realização deste experimento, observou-se que os três tratamentos apresentaram eficácia similar para a sincronização da ovulação em vacas de corte da raça Braford, demonstrando inclusive, que os três dispositivos de liberação lenta de MAP, progesterona e norgestomet são efetivos para a utilização em protocolos de sincronização da ovulação para IATF. A esponja vaginal impregnada com MAP é o dispositivo de menor custo, porém, há que ser considerado o elevado índice de perda do implante nos animais

tratados. Neste caso, a alta incidência pode ter sido devido ao sistema de manejo (confinamento) e ao grupo racial dos animais.

## Conclusão

A sincronia na emergência da onda folicular é crucial para o sucesso dos protocolos de sincronização da ovulação.

Os protocolos utilizados nos grupos 1, 2 e 3 foram eficientes em promover a emergência sincronizada de uma nova onda folicular, apesar de variações no dia da emergência terem influenciado na sincronia das ovulações.

Apesar dos grupos 1 e 3 terem apresentado um animal com ovulação precoce (antes do momento preconizado para a IATF), os três protocolos foram eficientes em promover a ovulação sincronizada de um FD com poucos dias de dominância e com diâmetro satisfatório.

## Referências

- AUSTIN, J.E. et al. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.2219–2226, 1999.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. In: **I Simpósio de Reprodução Bovina – Sincronização de Estros em Bovinos**, Porto Alegre-RS. Anais, p. 41-60, 2002.
- BASTOS, G.M. et al. Hormonal induction of ovulation and artificial insemination in suckled beef cows under nutritional stress. **Theriogenology**, v.62, p.847-853, 2004.
- BERGFELD, E.G.M. et al. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of  $17\beta$ -estradiol in bovine females. **Biology of Reproduction**, v.54, p.546–553, 1996.
- BÓ, G.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol- $17\beta$  treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**, v.41, p.1555–1569, 1994.
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; VENERANDA, G. Aplicación de programas de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en rodeos de cría manejados en condiciones pastoriles. In: **XXXI Jornadas Uruguayas de Buiatría**, Paysandú, Uruguay, 2003. Anais, p. 31-40, 2003.
- BRIDGES, P.J. et al. Follicular growth, estrus and pregnancy after fixed-time insemination in beef cows treated with intravaginal progesterone inserts and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.52, p.573-583, 1999.

BURKE, C.R. et al. Use of a small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. **Journal of Animal Science**, v.78, p.145-151, 2000.

CACCIA, M.; BÓ, G.A. Follicle wave emergence following treatment of CIDR-implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**, v.49, p.34, 1998. Abstr.

CARVALHO, J.B.P. de. Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR<sup>®</sup>) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus*. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 124f, 2004.

CAVALIERI, J. et al. Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and hormonal concentrations in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.76, p.177-193, 2003.

COLAZO, M.G. et al. Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. **Theriogenology**, v.63, p.1454-1468, 2005.

CUTAIA, L. et al. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo em rodeos de cria: factores que lo afectan y resultados productivos. In: **V Simposio Internacional de Reproducción Animal**, junho de 2003, Huerta Grande, Córdoba, Argentina, 2003.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239, 2001.

GINTHER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science**, v.20, p.187-200, 1989.

HIXON, J.E. et al. A luteolytic interaction between estradiol benzoate and prostaglandin F2 $\alpha$  in cattle. **Journal of Animal Science**, v.56, p.1190-1197, 1983.

LAMMOGLIA, M.A. et al. Induced and synchronized estrus in cattle. Dose titration of estradiol benzoate in prepubertal heifers and post-partum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2 $\alpha$ . **Journal of Animal Science**, v.76, p.1662-1670, 1998.

LARSON, R.L.; KIRACOFÉ, G.H. Estrus after treatment with Syncro-Mate B in ovariectomized heifers is dependent on the injected estradiol valerate. **Theriogenology**, v.44, p.177-187, 1995.

MACMILLAN, K.L. Pharmacological control of the oestrus cycle to improve the reproductive performance of cattle. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.61-64, 1999.



MAPLETOFT, R.J. et al. The effect of estradiol preparation on follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet-implanted cattle. **Theriogenology**, v.51, p.411, 1999. Abstr.

MAPLETOFT, R.J. et al. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. **Journal of Animal Science**, v.81, p. 28-36, 2003.

MARTINEZ, J.P. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.

MORAES, J.C.F.; JAUME, C.M. Sincrobovi: um pessário para sincronização deaios em bovinos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.21, p.99-101, 1997.

MORENO et al. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408, 2001. Abstr.

O'ROURKE, M. et al. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. **Animal Reproduction Science**, v.59, p.1-12, 2000.

PETERSON, C.A.; HUHN, J.C.; KESLER, D.J. Norgestomet- and oestradiol valerate-induced luteolysis is dependent upon the uterus. **Animal Reproduction Science**, v.58, p.253-259, 2000.

SILVIA, W.J. et al. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F<sub>2α</sub> during luteolysis in ruminants. **Biology of Reproduction**, v.45, p.655-663, 1991.