

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ROBERTO RAMOS SOBREIRA**

**UTILIZAÇÃO DO CIPIONATO DE ESTRADIOL E BENZOATO DE ESTRADIOL EM  
PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM NOVILHAS  
MISTIÇAS (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**

**ALEGRE-ES**

**2015**

ROBERTO RAMOS SOBREIRA

**UTILIZAÇÃO DO CIPIONATO DE ESTRADIOL E BENZOATO DE ESTRADIOL EM  
PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM NOVILHAS  
MISTIÇAS (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Orientador <sup>(a)</sup>: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jeanne Broch Siqueira

ALEGRE-ES

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

---

S677u Sobreira, Roberto Ramos, 1988-  
Utilização do cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)/ Roberto Ramos Sobreira. – 2015.  
50f. : il.

Orientador: Jeanne Broch Siqueira.

Coorientador: Fabrício Albani Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Reprodução animal. 2. Hormônios. 3. Indutores de ovulação. 4. Fisiologia reprodutiva. 5. Manejo. 6. Novilhas. I. Siqueira, Jeanne Broch. II. Oliveira, Fabrício Albani. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 619

---

ROBERTO RAMOS SOBREIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Reprodução e Nutrição Animal.

Aprovado em 26 de Fevereiro de 2015.

**COMISSÃO EXAMINADORA**



---

**M.V/ DSc. Fabrício Albani Oliveira**  
**Coorientador**  
**Instituto Federal do Espírito Santo**



---

**Profª. DSc. Graziela Barioni**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**



---

**Prof. DSc. Diogo Vivacqua de Lima**  
**Multivix Castelo**

Aos meus pais Leni Pires Ramos Sobreira e José Roberto Sobreira. A minha irmã Raquel Ramos Sobreira. E minhas avós Aurora Matos Sobreira e Rosalina Adelaide Aguiar (*in memoriam*).

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aquele que é um ser supremo, presente em meus pensamentos, que me orienta e continuará sempre ao meu lado, obrigado Deus.

Aos meus pais, José Roberto Sobreira e Leni Pires Ramos Sobreira, pelo amor sem medida e todo apoio.

A minha querida irmã, Raquel Ramos Sobreira, pelo diálogo e sonhos que compartilhamos e concretizamos juntos.

A minha avó, Aurora Matos Sobreira, sempre preocupada com seu neto, um exemplo de pessoa e, acima de tudo, uma mulher de fé.

A minha avó, Rosalina Adelaide Aguiar (*in memoriam*), um ser humano que reunia bondade, simplicidade e compaixão, obrigado pela convivência.

A Universidade Federal do Espírito Santo, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural – INCAPER, em nome dos amigos José Nilo Alves e Gilson Tófano, que me proporcionaram o vínculo com o INCAPER e o mestrado, e aos demais amigos deste instituto, Júlio, Eliana, Mariluce, Bevaldo e Jean pelo apoio e conselhos.

A orientadora, Jeanne Broch Siqueira, pela compreensão inicial, confiança posterior, estando sempre disposta a ajudar, sendo ela, fundamental para o término deste trabalho.

Ao amigo e coorientador, Fabrício Albani Oliveira, pelo aprendizado proporcionado, pessoa essencial para a realização do projeto de pesquisa e elaboração desta dissertação.

Aos companheiros das fazendas onde foi realizado o projeto: “Delega”, “Zé” e demais pessoas.

A professora, Grazi (Graziela Barioni), pela benevolência.

Ao amigo de trabalho e sala de aula, Ítalo Câmara de Almeida.

Enfim, a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta etapa em minha vida, muito obrigado!

*“Há homens que lutam um dia e são bons,  
Há outros que lutam um ano e são melhores,  
Há os que lutam muitos anos e são muito bons,  
Mas há os que lutam toda a vida e estes são imprescindíveis”*

Bertold Brecht.

## RESUMO

SOBREIRA, ROBERTO RAMOS. **Utilização do cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. 2015. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

Avaliou-se a eficiência de dois diferentes sincronizadores e indutores da ovulação: benzoato de estradiol (BE) e cipionato de estradiol (CE) em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sobre a dinâmica folicular e a taxa de prenhez de novilhas mestiças criadas em regime extensivo. Foram utilizadas 128 novilhas em dois ensaios com delineamento inteiramente casualizado. Todos os animais foram submetidos ao mesmo protocolo de sincronização: dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIV) acrescida de aplicação intramuscular (IM) de 2mg de BE; dia 8 (D8), retirada do DIV, aplicação (IM) de 0,15mg de PGF<sub>2α</sub> e 300 UI de eCG; no dia 8 os animais foram distribuídos em dois tratamentos: 1) Tratamento com CE no dia 8 - Em 64 novilhas foi aplicado 1mg de CE IM no D8 e a IA foi realizada 48 horas após a retirada do DIV; 2) Tratamento com BE no dia 9 - Em 64 novilhas foi aplicado 1mg de BE no D9 IM e a IA foi realizada 52 horas após a retirada do DIV. Em cada grupo dez animais foram separados para avaliação da dinâmica folicular, os exames ultrassonográficos realizados nos dias 0, 8, e no dia 10. A partir do D10 a ultrassonografia foi realizada de 12 em 12 horas até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante. Nas 108 novilhas restantes, ainda separada em dois grupos, foi avaliada a taxa de prenhez aos 30 dias após a IATF para ambos os protocolos. As variáveis relacionadas à dinâmica folicular foram analisadas pela análise de variância (ANOVA) com nível de 5% de significância, e para comparação entre a taxa de ovulação e entre os índices de prenhez em cada tratamento, foi utilizado o teste qui quadrado. Das 10 novilhas avaliadas no TBE9, seis não responderam ao tratamento, pois não foi verificada presença de folículo ovulatório e corpo lúteo. Quanto ao número de folículos classificados de acordo com seu tamanho em folículos < 6 mm, 6-8 mm e > 8 mm, só observou-se diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos no dia 8 para os folículos > 8 mm. Não houve diferença ( $p > 0,05$ ) para a taxa de crescimento folicular, sendo  $0,81 \pm 0,63$  mm/dia e  $0,89 \pm 0,26$  mm/dia para CE e BE, respectivamente. Não houve

diferença, entre CE e BE, para o diâmetro do folículo dominante ( $10,97 \pm 1,24$  e  $9,77 \pm 1,36$ mm, respectivamente) e intervalo da ovulação à IATF ( $13,20 \pm 3,79$  e  $23,00 \pm 14,28$ h, respectivamente). A retirada do dispositivo de progesterona à ovulação, em horas, foi de  $60,60 \pm 3,69$  e  $74,75 \pm 15,17$ h, respectivamente para CE e BE ( $p < 0,05$ ). Houve diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos para a taxa de ovulação, que foi de 90,00% e 40,00% para CE e BE, respectivamente. Não houve efeito dos tratamentos ( $p > 0,05$ ) para taxa de prenhez, que foi de 37,3% para ambos os tratamentos. O protocolo de IATF com administração de CE no dia 8 possibilita a redução de um manejo nos protocolos de IATF sem influenciar na taxa de prenhez de novilhas mestiças criadas a pasto.

Palavras-chave: hormônios; manejo; reprodução

## ABSTRACT

SOBREIRA, ROBERTO RAMOS. **Use of estradiol cypionate and estradiol benzoate in artificial insemination protocols in fixed time in crossbred heifers (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**. 2015. 50p. Dissertation (Master of Veterinary Science) - Centre of Agricultural Sciences, Federal University of Espírito Santo, Alegre, ES, 2015.

The efficiency of two different synchronizers and ovulation induction were evaluated: estradiol benzoate (EB), estradiol cypionate (EC) in artificial insemination protocols in fixed time (TAI) on the follicular dynamics and heifers pregnancy rate crossbred created in extensive farming conditions. So, 128 heifers were used in two runs with a completely randomized design. All animals were subjected to the same synchronization protocol: day 0 (D0), within the vagina progesterone insertion device (DIV) plus intramuscularly (IM) 2mg EB; day 8 (D8), withdrawal of DIV, application (IM) of 0.15mg of PGF<sub>2α</sub> and 300 IU of eCG; on 8 animals were divided into two treatments: 1) Treatment with EC on 8 - In 64 heifers was applied 1.0mg of EC IM at D8 and the AI was performed 48 hours after the removal of the DIV; 2) Treatment with EB on Day 9 - In 64 heifers was applied 1mg of EB in D9 IM and AI was performed 52 hours after removal of the DIP. Ten animals in each group were separated for evaluation of follicular dynamics, ultrasound examinations performed on days 0, 8, and day 10. From ultrasonography D10 was performed in 12 of 12 hours to determine the absence of ovulation of follicles dominant. In the remaining 108 heifers, still divided into two groups, the pregnancy rate at 30 days was assessed after TAI for both protocols. Variables related to follicular dynamics were analyzed by analysis of variance (ANOVA) with the 5% level of significance, and to compare between ovulation rate and between pregnant rates, in each treatment, was used the chi square test. Of the 10 heifers evaluated in TBE9 six did not respond to treatment because it was not verified presence of ovulatory follicle and corpus luteum. As for the number of follicles classified according to their size follicles <6 mm, 6-8 mm and <8 mm, only difference was observed ( $p < 0.05$ ) between treatments at day 8 for the follicles > 8 mm. No significant differences ( $p > 0.05$ ) for follicular growth rate are  $0.81 \pm 0.63$ mm / day and  $0.89 \pm 0.26$  mm / day to EB and EC, respectively. There was no difference between CE and BE, to the diameter of the dominant follicle ( $10.97 \pm 1.24$  and  $9.77 \pm 1.36$ mm, respectively) and range of ovulation to TAI ( $13.20 \pm 3.79$  and 23.

00 ± 14.28h, respectively). The withdrawal of progesterone device ovulation in hours was 60.60 ± 3.69 and 74.75 ± 15.17h respectively for CE and BE (p<0.05). There were differences (p<0.05) between treatments for ovulation rate, which was 90.00% and 40.00% for CE and BE, respectively. No effects of treatments (p>0.05) for pregnancy rate, which was 37.3% for both treatments. The TAI protocol with EC provision on 8 enables the reduction of a management in TAI protocols without influencing pregnancy rate of crossbred heifers raised on pasture.

Keywords: hormones; management; reproduction

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
Figura 1	<b>Esquematização do ciclo estral bovino .....</b>	<b>17</b>
Figura 2	<b>Interações hormonais no controle do ciclo estral .....</b>	<b>19</b>
Figura 3	<b>Representação esquemática dos momentos de realização do protocolo TCE8/TBE9 (tratamento com cipionato de estradiol no dia 8 e tratamento com benzoato de estradiol no dia 9) e acompanhamento da dinâmica folicular por ultrassonografia .....</b>	<b>32</b>
Figura 4	<b>Esquematização da distribuição dos animais nos grupos experimentais .....</b>	<b>33</b>
Figura 5	<b>Representação esquemática dos protocolos de sincronização da ovulação e do momento das inseminações de novilhas submetidas ao tratamento com cipionato de estradiol administrado no dia 8 .....</b>	<b>34</b>
Figura 6	<b>Representação esquemática dos protocolos de sincronização da ovulação e do momento das inseminações de novilhas submetidas ao tratamento com benzoato de estradiol administrado no dia 9 .....</b>	<b>34</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

E <sub>2</sub>	Estrógeno
BE	Benzoato de estradiol
CE	Cipionato de estradiol
DIV	Dispositivo intravaginal
IM	Intramuscular
P <sub>4</sub>	Progesterona
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandina F <sub>2α</sub>
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
FSH	Hormônio folículo estimulante

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>		<b>Página</b>
Tabela 1	<b>Média e desvio padrão do número de folículos de acordo com a classificação em folículos pequenos (&lt; 6mm), folículos médios (entre 6-8mm) e folículos dominantes (&gt; 8mm) em função dos tratamentos com CE e BE em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças .....</b>	<b>36</b>
Tabela 2	<b>Taxa de crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante no D10, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona da IATF à ovulação e IATF à ovulação (média ± desvio-padrão), em função dos tratamentos com CE e BE em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças .....</b>	<b>37</b>
Tabela 3	<b>Taxa de ovulação (%) e taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos com TCE8 e TBE9 em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças</b>	<b>40</b>

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	15
2.1 Ciclo estral em bovinos .....	15
2.2 Dinâmica follicular ovariana .....	17
2.2.1 Luteogênese .....	20
2.3 Inseminação artificial em tempo fixo .....	21
2.4 Hormônios utilizados em programas de IATF.....	22
2.4.1 Progestágenos .....	22
2.4.2 Estrógenos .....	24
2.4.3 Prostaglandinas (PGF <sub>2α</sub> ) .....	26
2.4.4 Gonadotrofina coriônica equina (eCG) .....	27
2.5 IATF em novilhas .....	28
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	31
3.1 Localização .....	31
3.2 Delineamento experimental .....	31
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	36
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	43
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	44

## 1. INTRODUÇÃO

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) é um programa de tratamento hormonal desenvolvido para corrigir as limitações da inseminação artificial (IA) convencional, além de agregar vantagens como a eliminação da necessidade de observação de estro, induzir o ciclo estral e a ovulação (GOTTCHALL et al., 2010). Adicionalmente, a utilização da ultrassonografia, é vista como uma ferramenta no auxílio da IATF fazendo com que o pecuarista adiante os resultados em relação ao diagnóstico de prenhez, podendo tomar medidas necessárias em um curto espaço de tempo (OLIVEIRA et al., 2010). Os protocolos mais utilizados associam os hormônios progesterona/progestágenos, prostaglandina, gonadotrofina coriônica equina e estrógenos como o benzoato e o cipionato de estradiol. As associações feitas com estes hormônios visam aumentar a fertilidade do estro induzido e a precisão do momento da ovulação (DOMINGUEZ, 2009).

O estradiol é um hormônio esteróide, ou seja, faz parte de um grupo de lipídeos e está distribuído por todo o organismo. Em bovinos e em outras espécies é sintetizado principalmente nos folículos dominantes nos ovários, mas outros tecidos também podem produzi-lo, como por exemplo, a placenta, o córtex adrenal, testículos, cérebro e outros. Os estrógenos possuem diversas funções na fisiologia reprodutiva como expressão do estro, características sexuais secundárias, indução da liberação do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) e do hormônio luteinizante (LH). O estradiol e seus ésteres, como são chamados os compostos, são frequentemente empregados para promover o controle farmacológico do ciclo estral, uma vez que na ausência de progesterona sua administração pode estimular a liberação de GnRH e LH e causar a ovulação do folículo dominante (FERREIRA, 2010).

Esses estrógenos produzem diferentes perfis de circulação de estradiol, provavelmente devido diferenças na esterificação da molécula, o que leva a alterações na polaridade e no peso molecular das estruturas e, portanto, modifica a absorção e o metabolismo no organismo (TORRES et al., 2010). O benzoato de estradiol tem sido largamente utilizado como indutor da ovulação quando administrado 24h após a retirada da progesterona, entretanto, tem sido avaliada sua substituição por um análogo hormonal, denominado cipionato de estradiol, aplicado

concomitante a retirada da progesterona (CREPALDI, 2009; ANDRADE et al., 2012).

O cipionato de estradiol (CE), como indutor da ovulação, é uma alternativa que possibilita a realização de protocolos de IATF com apenas três períodos de manejo, reduzindo a mão de obra e minimizando o *stress* do animal. Permanecendo biodisponível de forma sistêmica por maior tempo, o CE administrado juntamente com a retirada do implante de progesterona, mantém níveis plasmáticos suficientes para estimular o pico de LH após a queda dos níveis de progesterona (P<sub>4</sub>) (PALHÃO et al., 2014).

A utilização de animais mestiços, produtos do cruzamento de raças zebuínas com raças européias, é prática bastante difundida no Brasil (VERCESI FILHO et al., 2007). Os animais mestiços do rebanho brasileiro apresentam tolerância ao ambiente tropical, o que demonstra a importância social e econômica destes animais para o país, e sua exploração, aparece como alternativa viável para diversos sistemas de produção que buscam redução no custo a partir de animais sustentados em regime a pasto (McMANUS et al., 2002).

Programas de sincronização e indução da ovulação já têm sido utilizados, com sucesso, em novilhas *Bos taurus taurus* (COLAZO; KASTELIC; MAPLETOFT, 2003). Porém, os programas de IATF em novilhas *Bos taurus indicus* têm sido realizados, necessitando de mais estudos para aumentar a taxa de prenhez (BARUSELLI et al., 2004). A maioria dos trabalhos publicados sobre protocolos de IATF em novilhas se refere às raças puras, européias e zebuínas. No entanto, poucos estudos são realizados com animais mestiços *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*.

Assim, objetivou-se com este estudo, avaliar a utilização do cipionato de estradiol e benzoato de estradiol em protocolos de IATF em novilhas mestiças *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*, quanto à dinâmica folicular e a taxa de prenhez.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Ciclo estral em bovinos

As fêmeas bovinas são animais poliéstricos anuais, ou seja, apresentam vários ciclos estrais ao longo do ano. O ciclo estral é o conjunto de fenômenos ocorridos entre duas ovulações (BÓ et al., 2006). Em fêmeas bovinas o ciclo estral varia entre 17 a 24 dias, com intervalos médios de 20 dias para novilhas e 21 dias para vacas. Este ciclo é regido por interações e antagonismos endocrinológicos de hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, gônadas e útero (FERREIRA, 2010). Esse período pode ser dividido em duas fases distintas: a folicular ou estrogênica, que se estende do proestro ao estro culminando na ovulação, e a luteínica ou progesterônica, que compreende o metaestro e o diestro culminando com a luteólise (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007) (Figura 1).

O período de proestro, com duração de dois a três dias, é a fase que antecede o estro, é caracterizado pelo declínio nos níveis de progesterona devido à regressão do corpo lúteo; pelo desenvolvimento folicular e pelo aumento dos níveis de estradiol no sangue. Nesta fase, a liberação hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) pelo hipotálamo estimula a secreção do hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) pela adenohipófise (SENGER, 2003). Os elevados níveis de FSH no sangue induzem o desenvolvimento dos folículos e, em sinergismo com o LH, estimulam sua maturação. À medida que o folículo se desenvolve, aumenta a produção de estradiol pelos folículos, que por *feedback* positivo, o estradiol estimula a liberação massiva do LH, dando início a fase de estro (ROELOFS et al., 2006).

O estro é a fase de maior destaque, este é o estágio mais conhecido do ciclo estral, pois ele é caracterizado pelo comportamento de receptividade sexual e pelos sinais característicos do estro: útero túrgido, cérvix relaxada, vagina e vulva com sinais de hiperemia e edema, além do corrimento de muco (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007). O estro dura aproximadamente 18 horas nas raças européias, mas nas raças zebuínas observam-se períodos mais curtos, em torno de 10 horas (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003). A ovulação é uma resposta ovariana à secreção de 17- $\beta$  estradiol e ao pico pré-ovulatório do LH ocorre em torno de 30 horas após o

início do estro, ou seja, entre 10 a 12 horas após o fim do estro (SENGER, 2003). Condições nutricionais e ambientais desfavoráveis tendem a suprimir os sinais de estro e conseqüente ovulação, devido à reduzida secreção do estrógeno (MOREIRA, 2013). Em condições menos favoráveis de manejo, mais de 50% do estro não são identificados, o que representa um dos maiores entraves para o uso da inseminação artificial em maior escala (BARUSELLI et al., 2004).

O estro é considerado como dia zero do ciclo estral, quando da utilização de qualquer protocolo hormonal ou qualquer intervenção que tem por base os dias do ciclo estral (FERREIRA, 2010).

O metaestro em bovinos é considerado o período que vai do final do estro até o quinto dia do ciclo estral, com duração de dois a três dias, tem como característica principal a ovulação que é a liberação do ovócito pelo folículo (ROELOFS et al., 2006). Após a ruptura do folículo, o ovócito é transportado para porção média do oviduto, onde ocorre à fertilização, e as células da parede interna do folículo se proliferam dando origem a uma nova estrutura, denominada corpo lúteo, é chamado em sua fase inicial de corpo hemorrágico, e este não responde à prostaglandina F2 alfa ( $PGF_{2\alpha}$ ) por falta de receptores específicos para este hormônio (FERREIRA, 2010). Durante o metaestro em vacas e novilhas, pode ocorrer uma pronunciada dilatação capilar do endométrio, decorrente da ação do alto nível de estrógeno ( $E_2$ ) nos vasos do útero, aumentando a vascularização do órgão, podendo ocorrer rompimento ou ruptura de pequenos capilares uterinos, às vezes com saída de algum muco sanguinolento (sangramento) um a três dias após o estro, o que é comumente denominado hemorragia de metaestro (SENGER, 2003), a qual apenas indica que a vaca esteve no estro, mas não tem qualquer relação com a taxa de concepção (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Os eventos subsequentes de reorganização do tecido luteal, com posterior aumento do fluxo sanguíneo ovariano e do peso do corpo lúteo, levam ao aumento gradativo da síntese de progesterona caracterizando o período de diestro (ANDRADE et al., 2012). Entre essas diversas fases do ciclo estral, o diestro é o de maior duração, do quinto ao décimo sétimo dia, caracterizada pela presença do corpo lúteo e, portanto, pode haver resposta à  $PGF_{2\alpha}$  (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

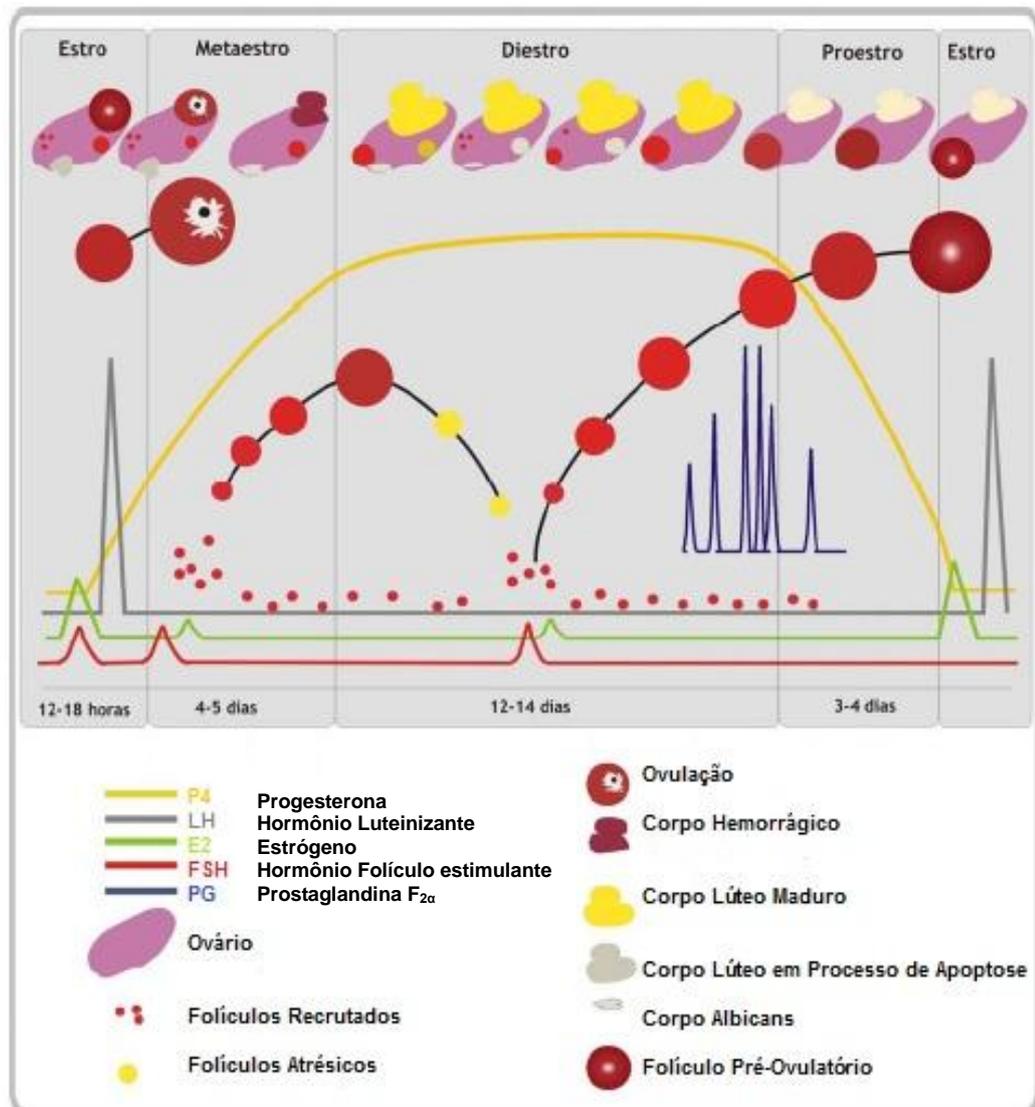


Figura 1 - Esquematização do ciclo estral bovino (Fonte: ALMERAYA, 2010).

## 2.2 Dinâmica folicular ovariana

A foliculogênese bovina é um processo contínuo de crescimento e atresia dos folículos ovarianos que se inicia na vida fetal, passa pela puberdade e continua na vida reprodutiva até a senilidade. Desta forma, a dinâmica folicular ovariana revela-se como um processo cíclico, podendo ser caracterizado a partir do processo de ativação, em quatro fases distintas: recrutamento (emergência), desvio (divergência), dominância e atresia, sendo cada uma delas controlada por mecanismos específicos (SENGER, 2003; ANDRADE et al., 2012). O eixo hipotálamo-hipofisário, por meio das gonadotrofinas, é fundamental na regulação do desenvolvimento folicular. O hormônio folículo estimulante (FSH), importante para o desenvolvimento folicular

inicial, e o hormônio luteinizante (LH), envolvido na seleção, no crescimento, na maturação e na ovulação do folículo dominante, são os reguladores primários durante a fase dependente de gonadotrofinas (GREGORY et al., 2009).

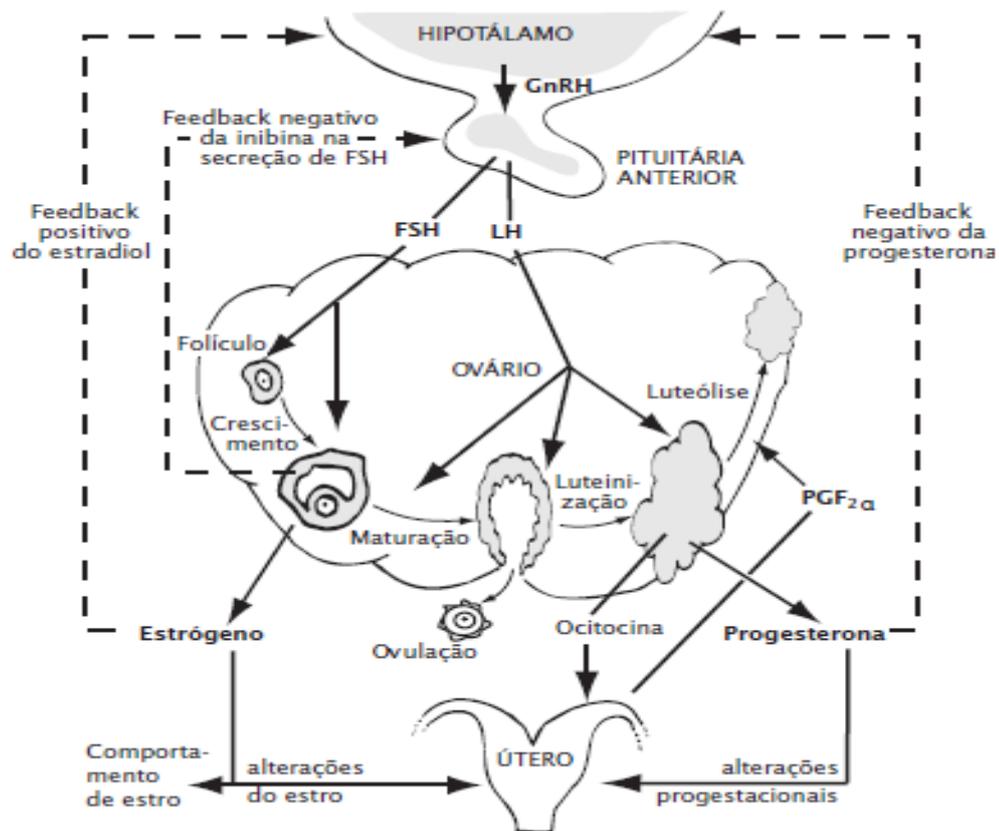
Nos ovários de uma fêmea púbere podem ser encontrados folículos primordiais (repouso), que consistem de um ovócito rodeado por uma camada de células somáticas (pré-granulosa) achatadas; folículos primários, quando a única camada de células da granulosa ao redor do ovócito torna-se cuboidal; folículos secundários ou pré-antrais, apresentam duas ou mais camadas de células da granulosa desenvolvida e o ovócito entra em uma fase de crescimento intenso; folículos terciários ou antrais em maturação, caracterizados por uma cavidade repleta de líquido (fluido folicular), o antro, dentro da multicamada da granulosa e o folículo pré-ovulatório ou de Graaf (FERREIRA, 2010).

A emergência folicular é caracterizada por processo onde grupo de folículos, cresce simultaneamente no ovário, estimulado pela liberação de FSH. Neste momento, esses folículos apresentam em torno de 4 mm de diâmetro, sendo responsivos e dependentes dessa gonadotrofina. O FSH permite que os folículos mantenham seu crescimento e proliferação celular, aumentando gradualmente sua capacidade esteroidogênica (BARUSELLI; GIMENES; SALES, 2007).

Cada onda de crescimento folicular em bovinos é caracterizada pelo recrutamento de um grupo de folículos (emergência) como dito acima, os quais continuam a crescer até aproximadamente 6 a 8 mm de diâmetro (*Bos indicus* e *Bos taurus*, respectivamente), quando passam pela seleção folicular (OLIVEIRA et al., 2010). A seleção folicular ocorre quando o folículo dominante cresce em taxa contínua e os demais folículos (ou subordinados) reduzem a taxa de crescimento e depois regridem (HAFEZ e HAFEZ, 2004). Essa mudança das taxas de crescimento é conhecida como divergência, e a diferença de tamanho entre o folículo dominante e o primeiro subordinado pode ser denominada divergência morfológica (OLIVEIRA; FERREIRA; MINGOTI, 2011). É o início da maior diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos da onda folicular (FERREIRA, 2010). Adicionalmente, Guinther et al. (2003) relataram em novilhas *Bos taurus taurus*, diâmetro folicular médio, dos dois maiores folículos no início da divergência de 8,5 e 7,7 mm. Já em *Bos taurus indicus* foi relatado que o diâmetro médio do maior folículo no momento da divergência é de 6,2 mm (GIMENES et al., 2008).

A dominância ocorre quando o folículo de maior tamanho adquire a capacidade de inibir o crescimento dos folículos subordinados. O folículo selecionado para dominância é o primeiro a desenvolver receptores para LH nas células da granulosa. O início da dominância ocorre no primeiro dia do ciclo estral em que o folículo dominante apresenta 1-2 mm a mais no diâmetro em relação ao segundo maior folículo da onda folicular e cessa o crescimento dos folículos subordinados da mesma onda folicular (FERREIRA, 2010).

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 (CL) ativo no ovário, com ampla produção de progesterona. Este hormônio exerce um efeito de retroalimentação negativa no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (Figura 2),



**Legenda:**

GnRH: Hormônio liberador de gonadotrofina  
FSH: Hormônio folículo estimulante

LH: Hormônio luteinizante  
PGF<sub>2α</sub>: Prostaglantina F2α

Figura 2 – Interações hormonais no controle do ciclo estral (Fonte: ALMERAYA, 2010).

reduzindo a amplitude e frequência dos pulsos de LH, o que inviabiliza os processos de maturação final do folículo e ovulação (Figura 2) (FERRAZ et al., 2010).

O acompanhamento diário das estruturas ovarianas por ultrassonografia tem demonstrado que os bovinos apresentam ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral. Novilhas podem ter duas ou três ondas por ciclo, com um folículo tornando-se dominante em cada uma delas. Por isso, uma população de pequenos, médios e grandes folículos é encontrada em cada ovário, durante todos os dias do ciclo estral (BORGES et al., 2001).

Essas ondas de crescimento folicular podem ser detectadas nos dias 0 e 9 pós-ovulação, para o padrão de ciclos estrais que apresentam duas ondas foliculares, ou nos dias 0, 9 e 16 para os ciclos estrais que apresentem três ondas foliculares (GREGORY et al., 2009).

### **2.2.1 Luteogênese**

O corpo lúteo é uma glândula endócrina, ovariana e transitória, formada a partir do folículo ovulado, cujo principal produto secretado é a progesterona, essencial para o estabelecimento e a manutenção da prenhez e para a ciclicidade ovariana (GIOMETTI et al., 2009). A luteogênese consiste em todas as mudanças morfológicas, endócrinas e enzimáticas que ocorrem no folículo ovulatório até que este se transforme em CL funcional capaz de secretar grandes quantidades de progesterona (COUTINHO et al., 2007).

A luteinização se inicia antes da ovulação, com mudanças na população de receptores de gonadotrofinas. A gonadotrofina que mais atua nestes receptores ocasionando à ruptura do folículo e sua posterior transformação em estrutura lútea é o LH. Após a ovulação, o espaço ocupado previamente pelo folículo é invadido por fibroblastos, células musculares lisas, células do sistema imune, células endoteliais, células da teca interna (CTI) e células da granulosa (CG), que sofrem hiperplasia e hipertrofia (SALLES; ARAÚJO, 2010). Este conjunto de células promove inicialmente, a formação de uma estrutura denominada de corpo hemorrágico, que se reorganiza para a formação do CL funcional.

A regulação da função luteínica é feita por complexo grupo de agentes que interagem na busca da homeostasia da glândula, portanto as células originárias do

corpo lúteo sofrem influência de vários fatores angiogênicos e mitogênicos (FERREIRA, 2010), das gonadotrofinas, mais particularmente o LH, que transitoriamente está em concentração mais elevada no plasma, transforma as células da granulosa e as células da teca em células luteínicas. Assim, as organelas, os substratos e as enzimas contidas nas células luteínicas esteroidogênicas presentes no CL irão determinar sua capacidade em sintetizar progesterona (GIOMETTI et al., 2009).

### **2.3 Inseminação artificial em tempo fixo**

O entendimento da fisiologia do ciclo estral bovino possibilitou a melhoria da eficiência reprodutiva das fêmeas bovinas, por meio de alterações ou modificações no ciclo estral por interferência na sequência cronológica natural das ondas dentro de um ciclo e por alterações nas fases dentro de cada onda de crescimento folicular (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006).

A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) consiste em tecnologia capaz de sincronizar a emergência de uma nova onda folicular, o estro e as ovulações, possibilitando a inseminação de grande número de animais em um momento mais apropriado a técnicos e produtores dispensando assim, a necessidade da observação de estro (TORRES-JÚNIOR et al., 2009). Além disso, Baruselli, Gimenes e Sales (2007) citaram que o emprego de protocolos de sincronização utilizando a progesterona assume um importante papel na retomada da ciclicidade estral dos animais em anestro.

Como vantagens da IATF destacam-se a eliminação da necessidade de observação do estro, evita inseminações de vacas e novilhas fora do momento certo, diminuindo o desperdício de sêmen, material e mão de obra; induz a ciclicidade de vacas em anestro transicional, permitindo a inseminação dessas fêmeas; diminui o intervalo entre partos, aumentando o número de bezerros nascidos; possibilita a programação das inseminações em curto período; concentra o retorno do estro das fêmeas falhadas na primeira inseminação em tempo fixo, facilitando o diagnóstico do estro no repasse; possibilita altas taxas de prenhez no início da estação de monta; concentra mão de obra, diminuindo o número de horas extras com inseminadores; diminui o descarte e custo de reposição de matrizes do rebanho e diminui o

investimento na compra de touros (BARUSELLI et al., 2004).

O tratamento padrão consiste na inserção do dispositivo de progesterona e a aplicação concomitante de 2mg de benzoato de estradiol em dia aleatório do ciclo estral; no momento da retirada da progesterona, cerca de sete a oito dias após sua inserção, são utilizados análogos da prostaglandina com a finalidade de promover a regressão de um possível corpo lúteo presente, seguido da administração de agentes responsáveis por induzirem a ovulação do folículo dominante (USLENGHI; CHAYER; CALLEJAS, 2010). Neste contexto, o custo dos hormônios derivados do estradiol torna os chamados ésteres de estradiol (CE e BE), a alternativa mais viável dentre os indutores da ovulação atualmente disponíveis no mercado (SOUZA et al., 2005).

## **2.4 Hormônios utilizados em programas de IATF**

Os métodos de sincronização compreendem o uso de fármacos que agem no eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal (BARUSELLI et al., 2004).

### **2.4.1 Progestágenos**

A Progesterona ( $P_4$ ) é um hormônio secretado pelas células luteínicas do corpo lúteo, atua na regulação do funcionamento do sistema reprodutor feminino, sendo. Assim como os estrógenos, é derivada do colesterol, sendo também secretada pela placenta, testículos e córtex adrenal, em pequenas quantidades (FERREIRA, 2010).

Este hormônio é responsável pela preparação do útero e manutenção da gestação. No revestimento do útero e tubas uterinas estimula a secreção das glândulas locais, inibindo a motilidade do miométrio (CARVALHO et al., 2008). Atua também, bloqueando a secreção de GnRH e FSH, níveis elevados de  $P_4$  produzida pelo corpo lúteo reduzem a produção de GnRH no hipotálamo, e por conseguinte de FSH na adenohipófise (RODRIGUES et al., 2013).

O fornecimento de progesterona pode ser por meio do alimento; injetável; em implantes subcutâneos ou pelos sistemas de liberação intravaginal (FERREIRA, 2010). Inúmeros progestágenos sintéticos tem sido utilizado na prática como:

acetato de melengestrol (MGA); acetato de clormadinona (CAP); acetato de flurogesterona (FGA) e acetato de medroxiprogesterona (MAP), sendo eficazes como sincronizadores de estro. O MGA é esteróide gestacional sintético de administração oral que inibe a ovulação, mas permite o crescimento de folículos ovarianos (MOREIRA, 2013).

Atualmente, existem no mercado, dois tipos de dispositivos de  $P_4$ , com maior utilização para sincronização do estro e ovulação: dispositivos vaginais e implantes auriculares subcutâneos. Esses dispositivos podem ser usados sozinhos ou em combinação com BE, com a finalidade de manter as concentrações médias de  $P_4$  no plasma e suprimir a liberação do LH endógeno (FERREIRA, 2010). Almeida et al. (2006) verificaram ao término do tratamento com progestágenos, a população de folículos pré-ovulatórios foi bastante homogênea, condição que favorece a sincronização da ovulação.

Inicialmente, os dispositivos eram utilizados apenas uma vez e descartados. No entanto, descobriu-se que a reutilização dos dispositivos comercialmente disponíveis poderia ser realizada sem que houvesse comprometimento das taxas de prenhez aos protocolos de IATF. Assim, esses dispositivos passaram a ser utilizados até quatro vezes em gado de corte e de leite (CARVALHO et al., 2008).

Carvalho et al. (2008) demonstraram que altas concentrações de  $P_4$  durante os protocolos de sincronização poderiam diminuir a fertilidade em fêmeas bovinas, justificando assim o uso de implantes de segundo, terceiro e quarto uso. A menor concentração de progesterona no dispositivo, poderia ser uma boa opção para animais sensíveis a concentrações mais elevadas de progesterona, como é o caso das novilhas.

Adicionalmente, segundo Peres et al. (2009) também em novilhas, observa-se menor probabilidade de concepção quanto maior a concentração de progesterona no momento da retirada do dispositivo. Esta informação também é relatada por Dias et al. (2009) em novilhas nelore, obtiveram maiores taxas de concepção conforme aumentaram o número de usos do dispositivo, ou seja, quando reduziram a quantidade de progesterona fornecida no dispositivo. Esses índices podem ser justificados pelas elevadas concentrações de  $P_4$  nos animais de primeiro uso, visto que alta concentração de progesterona reduz a frequência dos pulsos de LH, inibe o desenvolvimento do folículo dominante e o pico de LH (FERREIRA, 2010).

Baruselli et al. (2004) submetendo novilhas *Bos taurus indicus* ao tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona de primeiro uso, encontraram baixa taxa de ovulação ao final do tratamento. Coelho, Ribeiro e Ribeiro (2012) avaliando a utilização de implantes de primeiro e segundo uso em novilhas nelore, conseguiram índices de prenhez 36% e 51%, respectivamente.

#### **2.4.2 Estrógenos**

Os estrógenos são esteróides naturais, e têm como principais compostos o 17 $\beta$ -estradiol, a estrona e o estriol, produzidos principalmente no ovário, mas também na placenta e na adrenal (CREPALDI, 2009). O estradiol é sintetizado por enzimas esteroidogênicas como o citocromo P450, nas células da teca e pelo citocromo P450 aromatase nas células da granulosa (CHAVES, 2011). Geralmente, a principal função dos estrógenos é induzir a proliferação celular e o crescimento dos tecidos relacionados à reprodução (MARTÍNEZ et al., 2002). As respostas teciduais induzidas pelos estrógenos incluem estimulação do crescimento glandular endometrial, estimulação do crescimento de ductos na glândula mamária, aumento na atividade secretora dos ductos uterinos, indução da receptividade sexual, regulação da secreção de hormônio luteinizante (LH) pela adenohipófise, possível regulação da liberação de prostaglandina F2 alfa (PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ) pelo útero não gravídico e gravídico, anabolismo protéico e atividade epiteliotrófica (STELLA, 2004).

A associação de estrógenos aos tratamentos com progestágenos e/ou progesterona, promovem atresia do folículo dominante e induzem a emergência de uma nova onda de crescimento folicular 3 a 4 dias após sua aplicação (LOPES et al., 2000). O mecanismo pelo qual o estradiol causa regressão folicular envolve a inibição do FSH, até que o estradiol seja metabolizado (CHESTA et al., 2009a). A partir de então, as concentrações de FSH voltam a aumentar e nova onda folicular é recrutada (CAVALIERI et al., 2002).

Assim, 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 (CHESTA et al., 2009b). 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 prostaglandina para regressão do corpo lúteo (GREGORY et al., 2009).

Existem várias moléculas de estrógenos disponíveis no mercado para utilização em protocolos de sincronização do estro (BINELLI; IBIAPINA; BISINOTTO, 2006). Os principais são:  $17\beta$  estradiol, benzoato de estradiol, valerato de estradiol e o cipionato de estradiol (FERREIRA, 2010). Atualmente o mais utilizado nos protocolos é o benzoato de estradiol (BE). Por outro lado, se difundiu nos últimos anos, a utilização do cipionato de estradiol (CE) injetável concomitante a retirada do dispositivo de  $P_4$  com taxas de prenhez semelhantes ao obtido com o tratamento com BE (VEIGA et al., 2011). Colazo, Kastelic e Mapletoft (2003) em estudo com novilhas de 18 a 20 meses de idade, demonstraram que o uso do CE no momento do manejo de retirada do implante de  $P_4$ , ou BE 24 horas mais tarde são igualmente eficazes para sincronizar taxas de ovulação, e observaram taxa de prenhez similares entre os tratamentos. Andrade et al. (2012) não observaram diferenças entre os tratamentos para as variáveis: diâmetro do folículo ovulatório (CE:  $13,3 \pm 2,3$ mm; BE:  $12,7 \pm 1,9$ mm), momento das ovulações (CE:  $74 \pm 6,01$ h; BE:  $74,88 \pm 7,41$ h) e taxa de ovulação (CE: 100%; BE: 89,5%). No entanto, fêmeas nelore tratadas com cipionato de estradiol no dia oito apresentaram maior taxa de crescimento folicular (CE: 0,48mm/dia; BE: 0,29mm/dia) quando comparado ao benzoato de estradiol no dia nove, respectivamente.

Crepaldi (2009) avaliou o pico de LH com o uso de diferentes indutores de ovulação em vacas de corte. Administrou BE 24 a 30 horas após a remoção do dispositivo de  $P_4$ , ocorrendo o pico de LH em média 21,5 horas após a sua aplicação, e quando o protocolo de indução da ovulação utilizado foi o emprego do CE no momento da retirada do dispositivo de  $P_4$ , o pico de LH ocorreu em torno de 45 horas após a remoção. Segundo esses dados o pico de LH ocorreu no mesmo tempo com BE (24+21= 45 horas) e com CE (45 horas).

Gimenes et al. (2008) citaram que em novilhas nelore, a ovulação ocorre aproximadamente 30 horas após a administração de BE, com folículos maiores que 8,5 mm. Crepaldi (2009) observaram que tanto os animais tratados com BE no dia nove como CE no oitavo dia ovularam no mesmo momento (aproximadamente 72

horas após a retirada do dispositivo), proporcionando períodos semelhantes de inseminação, com a vantagem da redução de um tratamento para o protocolo que emprega o CE.

Apesar da divergência de informação quanto à capacidade de sincronia das ovulações induzidas pelo cipionato de estradiol, a inclusão deste hormônio nos protocolos de sincronização resultou em taxas de prenhez semelhantes às obtidas com o benzoato de estradiol, nas inseminações realizadas 48h, após a remoção da progesterona (AYRES et al., 2008; CREPALDI, 2009; ANDRADE et al., 2012). Esta estratégia da aplicação do CE simultâneo a retirada do dispositivo de progesterona viabiliza maior número de animais submetidos a protocolo com um manejo a menos, com as inseminações concentradas em um único dia, sem afetar a taxa de prenhez em novilhas de corte ou de leite (VEIGA et al., 2011).

#### **2.4.3 Prostaglandinas (PGF<sub>2α</sub>)**

A PGF<sub>2α</sub> é uma prostaglandina derivada do ácido araquidônico, produzida no endométrio, folículo pré-ovulatório e também na placenta por ocasião do parto (FERREIRA, 2010). Em ruminantes e, na grande maioria dos mamíferos, a PGF<sub>2α</sub> é o principal agente luteolítico responsável por promover a luteólise e bloquear a síntese de P<sub>4</sub> pelo CL, o que determina o final da fase luteínica (SILVA; TEIXEIRA; VICENTE, 2010).

A PGF<sub>2α</sub> é um hormônio muito utilizado para controle do ciclo estral, atuando por meio da regressão do corpo lúteo. É aplicada por via intramuscular entre os dias 6 a 17 do ciclo estral, entretanto a PGF<sub>2α</sub> controla somente a regressão do corpo lúteo, sem alteração do crescimento folicular (PEREIRA, 2010). Quando a luteólise é induzida por tratamento com PGF<sub>2α</sub>, o começo do estro é distribuído por um período de seis dias. Essa variação é devida ao *status* folicular dos ovários no momento do tratamento. Considera-se que o aumento da secreção pulsátil de LH durante o período entre a luteólise induzida pela prostaglandina exógena e a remoção do progestágeno, permita crescimento uniforme do folículo pré-ovulatório (MAPLETOFT; BÓ; BARUSELLI, 2009).

O uso de PGF<sub>2α</sub> e de progestágenos em programas de sincronização de estro baseia-se na redução ou no prolongamento da fase lútea. Entretanto, a

sincronização do estro e da ovulação não depende somente do controle da fase lútea, mas também do controle do desenvolvimento folicular (PFEIFER et al., 2005). A fase do desenvolvimento folicular pode ser avaliada por uma série de exames ultrassonográficos. No entanto, essas observações consomem muito tempo e são trabalhosas. Assim, uma alternativa é a indução eletiva da emergência de uma onda folicular para garantir a presença de um folículo dominante em sua fase final de crescimento no momento da indução da luteólise ou da retirada do progestágeno (CARVALHO et al., 2008).

#### **2.4.4 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)**

A eCG é um fármaco de meia vida longa (até três dias), produzido nos cálices endometriais de éguas prenhas entre 40 a 120 dias de gestação. Ele se liga a receptores foliculares de FSH e LH e aos receptores de LH presentes no corpo lúteo. Devido sua dupla ação (como FSH e LH), a eCG atua estimulando o desenvolvimento folicular, estimulando a esteroidogênese e o crescimento folicular levando o folículo pré-ovulatório a um diâmetro compatível com a ovulação (FERREIRA, 2010). A ação sinérgica do FSH e LH gera aumento da concentração de monofosfato de adenosina cíclica (AMPC) na célula do corpo lúteo, favorecendo a transformação do colesterol em pregnenolona e deste em progesterona (FUCK et al., 2002).

A inclusão da eCG nos protocolos de indução da ovulação está relacionada ao aumento da taxa de concepção por tornar mais presente e preciso o pico pré-ovulatório do LH, incrementar o crescimento dos folículos, tornando-os mais responsivo aos indutores da ovulação e aumentar a taxa de ovulação, principalmente dos animais em anestro (BARUSELLI et al., 2006). Em protocolos de IATF, o implante de progesterona inibe a liberação dos hormônios hipofisários (LH e FSH), diminui o desenvolvimento folicular e a ovulação até o momento desejado. Com a retirada do implante, a concentração de progesterona sérica declina rapidamente, com isso, o animal entra em estro (PEREIRA, 2010). A administração de eCG, nesse caso, estimula o desenvolvimento folicular e potencializa a ação sincronizante dos progestágenos.

O uso tem se mostrado compensador em rebanhos com baixa taxa de

ciclicidade, animais com condição corporal comprometida e mesmo em animais ciclando por fornecer um incremento na fertilidade devido à formação de corpo lúteo acessório aumentando as concentrações plasmáticas de  $P_4$  após a ovulação (FUCK et al., 2002).

Meneghetti e Miguel (2008) observaram aumento na taxa de prenhez em novilhas cíclicas submetidas a protocolos de IATF quando a eCG foi incluída no protocolo. Segundo os autores, o uso de eCG no dia da retirada dos implantes de progestágenos seria capaz de estimular o desenvolvimento final do folículo dominante destinado à ovulação, o que aumentaria as taxas de concepção em novilhas. De acordo com Peres et al. (2009) a aplicação de eCG pode minimizar qualquer efeito negativo das altas concentrações de  $P_4$  encontradas em novilhas púberes submetidas a protocolos de IATF, por ser capaz de estimular o desenvolvimento final do folículo, que poderia estar inibido durante o protocolo devido à presença de altas concentrações plasmáticas de  $P_4$ .

## 2.5 IATF em novilhas

Os programas de sincronização e indução da ovulação apresentam resultados satisfatórios e possibilita o emprego da IATF em novilhas, entretanto, protocolos hormonais desenvolvidos para vacas apresentam comprometimento na eficiência quando utilizados em novilhas (BARUSELLI et al., 2004). Novilhas *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* submetidas ao tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona com altas doses de progesterona apresentaram baixa taxa de ovulação ao final do tratamento (SÁ FILHO et al., 2013).

Em novilhas, um aspecto comum entre os protocolos de sincronização de estro para IATF é a inserção de um dispositivo intravaginal contendo  $P_4$  mais administração de benzoato de estradiol (BE; IM 2mg) no dia 0, pois segundo Bó et al. (1994) a administração de benzoato de estradiol associado à inserção do dispositivo intravaginal de progesterona, tem ação de potencializar o efeito de supressão do crescimento do folículo dominante pelas elevadas concentrações circulantes de ambos os hormônios, ocorrendo atresia do folículo dominante e levando a emergência de uma nova onda de crescimento folicular; e uma aplicação de prostaglandina  $PGF_{2\alpha}$  0,15mg e 300 a 400 UI de gonadotrofina coriônica equina

(eCG) no momento da retirada do dispositivo.

Diferentes indutores de ovulação com eficiência semelhante podem ser utilizados, tal como cipionato de estradiol (ECP; 1mg por via intramuscular) no momento da retirada do implante, BE (1,0mg intramuscular) 24 horas após a remoção do implante de P<sub>4</sub> implante ou GnRH na inseminação. A IATF é geralmente realizada 48 a 56 horas após a remoção do dispositivo de P<sub>4</sub> (BARUSELLI et al., 2004).

Todos os ésteres de estradiol são capazes de induzir a regressão de folículos antrais quando administrados na presença de elevadas concentrações de progesterona (MARTINS, 2007). O cipionato de estradiol apresenta meia vida longa, resultando na indução de nova onda folicular mais tardia e menos sincronizada que o 17 $\beta$  estradiol ou o Benzoato de estradiol (BE) (SANTOS, 2010). Carvalho (2004) analisou o efeito do tratamento com benzoato de estradiol e progesterona na emergência da onda folicular em novilhas *Bos taurus indicus*, *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* e *Bos taurus taurus* mantidas nas mesmas condições de manejo. Não foi observada diferença no intervalo entre o tratamento com benzoato de estradiol e a emergência folicular entre as subespécies.

Em estudo conduzido por Vogg (1999), onde 125 novilhas receberam 1,0mg de BE intramuscular, 24 horas após a retirada do dispositivo de progesterona, os resultados indicaram que embora o uso do BE 24 horas após a retirada do dispositivo de progesterona aumente a taxa de inseminação, coexiste com menor índice de prenhez ao primeiro serviço, não sendo, portanto, um procedimento útil para a indução e sincronização do estro em novilhas de 14 e 24 meses. Reis et al. (2004) relataram que o cipionato de estradiol não foi eficiente em sincronizar as ovulações dos animais tratados com progesterona. Martins et al. (2005) encontraram semelhantes taxas e tempo para as ovulações induzidas com o BE e CE.

Pegorer (2009) utilizando um protocolo com BE (2mg, IM), dispositivo intravaginal de progesterona durante 9 dias, 150  $\mu$ g de de croplostenol no dia da retirada do dispositivo e BE como indutor de ovulação (1mg,IM) 24 horas mais tarde (n=143) em novilhas nelores, obteve 80% de ovulação e 45% de prenhez. Martins (2007) avaliaram o efeito de diferentes ésteres de estradiol, BE e CE, e doses de cipionato de estradiol (0,5 e 1,0mg) na taxa de concepção de novilhas nelore (*Bos taurus indicus*) submetidas a IATF. Nos grupos 0,5-ECP e 1,0-ECP os animais

receberam, respectivamente, 0,5mg e 1,0mg de Cipionato de estradiol no dia da retirada do implante e no grupo 1,0-BE receberam 1,0mg de Benzoato de estradiol no dia 9. Os animais foram inseminados 54 horas após a retirada do implante auricular. As taxas de prenhez à inseminação artificial em tempo fixo na fazenda A foram de 50,0% (30/60) para grupo 0,5-ECP, de 30,0% (18/60) para o grupo 1,0-ECP e de 60,0% (36/60) para o grupo 1,0-BE e na fazenda B de 61,7% (37/60) para grupo 0,5-ECP, de 51,7% (31/60) para o grupo 1,0-ECP e de 40,0% (24/60) para o grupo 1,0-BE. O uso do BE como indutor de ovulação apresentou diferença significativa em comparação aos tratamentos e doses de CE. Demonstrando divergência dos dados do uso do BE e CE na literatura.

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 Localização

O experimento foi realizado em uma propriedade localizada no Município de Dores do Rio Preto, no estado do Espírito Santo, situado nas coordenadas geográficas 20°41' Sul, 41°50' Oeste e a 774m de altitude, no período de fevereiro a junho de 2014. O clima predominante da região é o tropical com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, temperatura média anual de 19,2 °C e precipitação pluviométrica de 1.730mm anuais.

#### 3.2 Delineamento experimental

Foram utilizadas, 128 novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*), com escore de condição corporal (ECC) acima de 2,5, que apresentavam, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica, e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico.

O manejo das novilhas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem composta principalmente de braquiarião (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu). Sal proteinado, mineral e a água foram fornecidos *ad libitum*.

Todas as novilhas foram submetidas a um protocolo de sincronização (Figura 3): no dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (DIV) e aplicação intramuscular (IM) de 2mg de benzoato de estradiol (BE); dia 8 (D8): retirada do DIV, aplicação IM, de 0,15mg de cloprostenol sódico (PGF<sub>2α</sub>) e aplicação IM de 300 UI de eCG. No dia 8 os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois tratamentos: 1) Tratamento com cipionato de estradiol (CE) no dia 8 (64 animais) – aplicação de 1mg de CE por via IM, no D8 (TCE8). 2) Tratamento com BE no dia 9 (64 animais) – aplicação de 1mg de BE no D9 por via IM (TBE9). Foram inseridos em todas as novilhas implantes de P<sub>4</sub> de 2<sup>o</sup> ou 3<sup>o</sup> uso, de forma aleatória. Todos os manejos de aplicação dos fármacos foram entre 09:00 e 10 horas da manhã, dos respectivos dias.

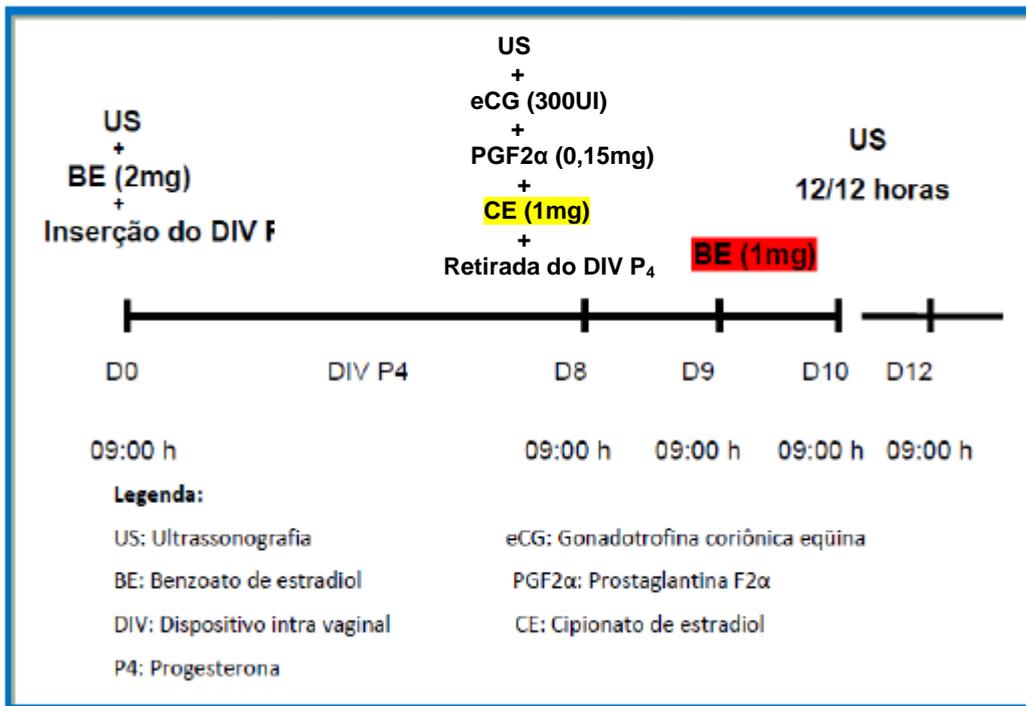


Figura 3 - Representação esquemática dos momentos de realização do protocolo TCE8/TBE9 (tratamento com cipionato de estradiol no dia 8 e tratamento com benzoato de estradiol no dia 9) e do acompanhamento da dinâmica folicular por ultrassonografia.

Em cada grupo, dez animais foram separados para avaliação da dinâmica folicular (figura 4). Os exames ultrassonográficos destas 20 novilhas foram realizados nos dias 0, 8 e no dia 10 (Figura 3). A partir do D10 a US foi realizada de 12 em 12 horas até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante, com aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (MINDRAY®, modelo DP2200 VET). Assim, foi verificado no D0 o *status* folicular, e nos demais dias avaliadas a dinâmica folicular.

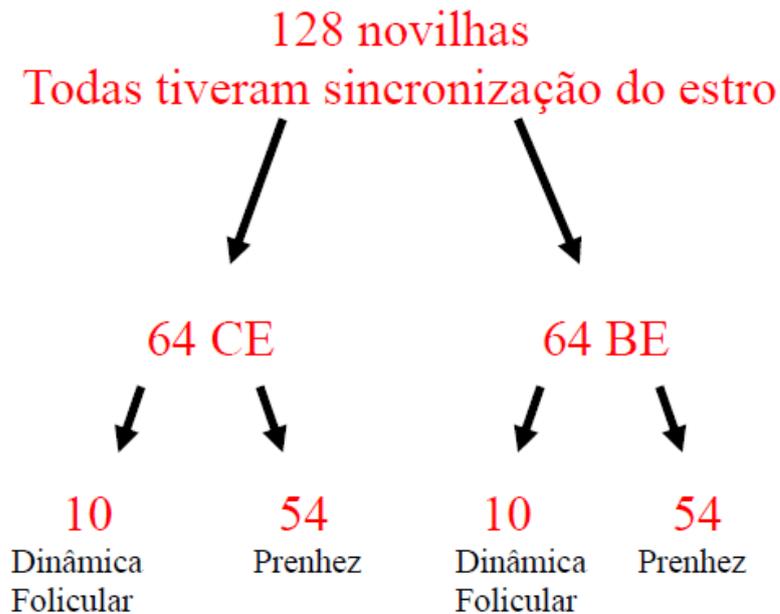


Figura 4 – Esquemática da distribuição dos animais nos grupos experimentais. CE: Cipionato de Estradiol; BE: Benzoato de Estradiol.

Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro em pequenos (FP<6mm), médios (FM de 6 a 8mm) e dominantes (FD>8mm) (BORGES et al., 2001). Foi calculada a taxa de crescimento folicular (mm/dia), pela divisão da diferença do tamanho do folículo dominante do dia 10 pelo do dia 8, dividido pelo número de dias  $(D_{10}-D_8/2)$  e o diâmetro do folículo dominante. Estabeleceu-se também o tempo (em horas) da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação, tempo (em horas) da I.A à ovulação e a taxa de ovulação (números de animais que ovularam de cada tratamento, dividido pelos animais dos respectivos tratamentos).

As inseminações artificiais (IA) foram realizadas 48 e 52 h após a retirada do dispositivo intravaginal de  $P_4$  (DIV) para os tratamentos com CE (Figura 5) e BE (Figura 6) respectivamente, sendo feitas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen convencional de touros da raça nelore, gir e holandês, de acordo com as características raciais de cada novilha, de uma central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA). No 30<sup>o</sup> dia após a IATF, os animais foram avaliados por meio de ultrassonografia, e a taxa de prenhez foi determinada em cada tratamento.

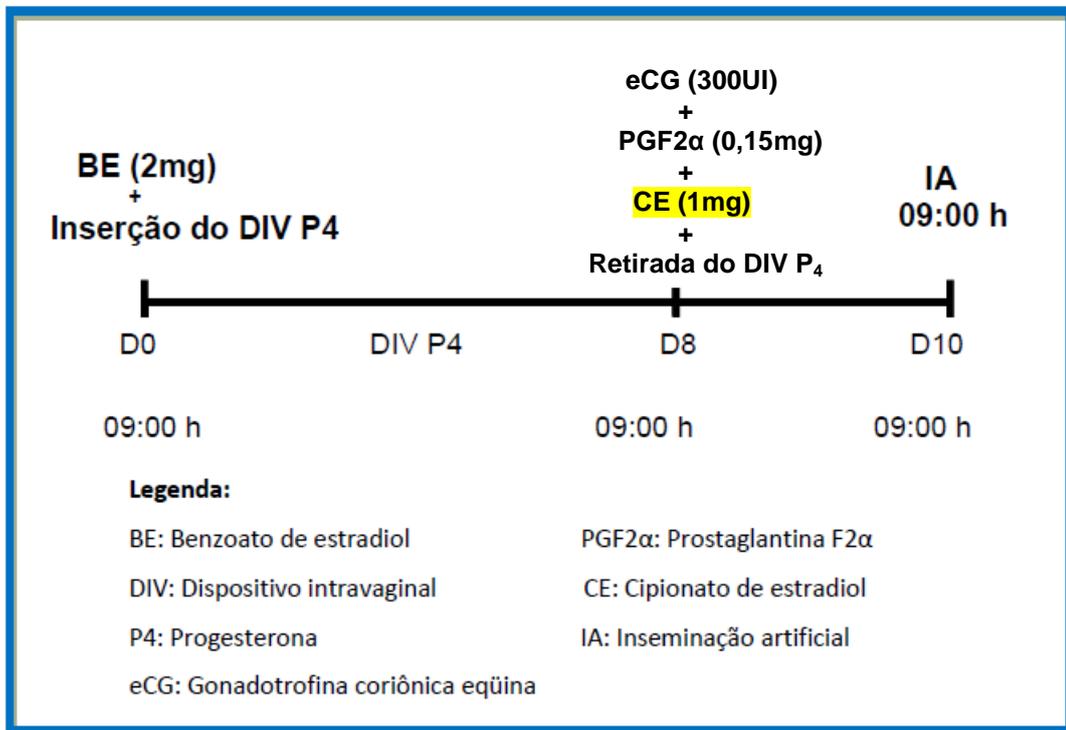


Figura 5 – Representação esquemática dos protocolos de sincronização da ovulação e do momento das inseminações de novilhas submetidas ao tratamento com cipionato de estradiol administrado no dia 8.

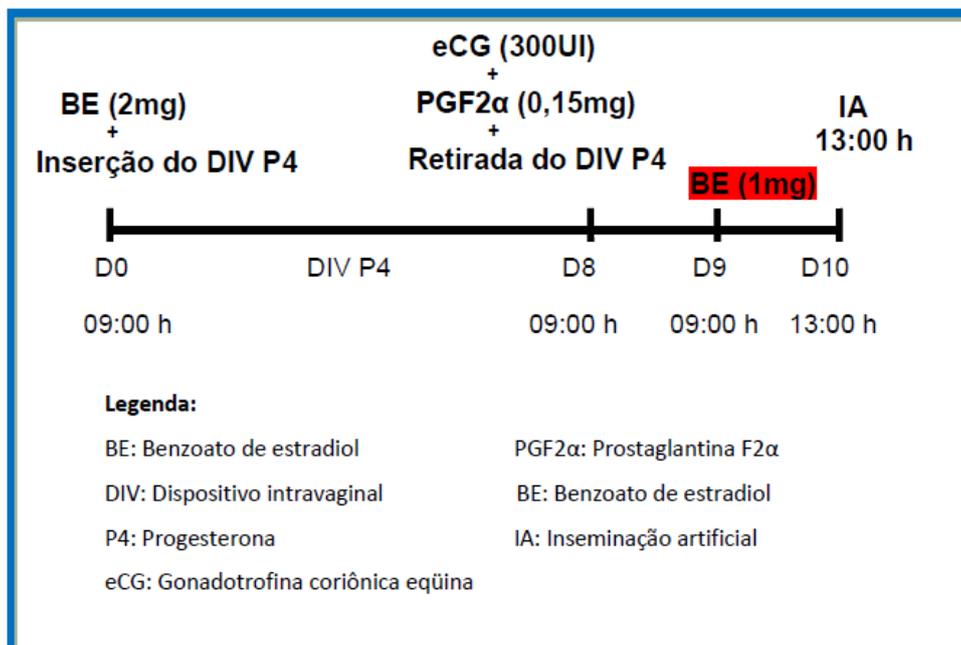


Figura 6 – Representação esquemática dos protocolos de sincronização da ovulação e do momento das inseminações de novilhas submetidas ao tratamento com benzoato de estradiol administrado no dia 9.

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SAS Studio (2014), em delineamento inteiramente casualizado, considerando os efeitos dos tratamentos. As variáveis com distribuição normal, como o diâmetro do folículo dominante e taxa de crescimento folicular foram analisadas utilizando-se o teste de t independente. Quanto aos dados não paramétricos como o número de folículos < 6 mm, 6-8 mm e > 8 mm, intervalo da retirada do implante de P<sub>4</sub> à ovulação e da IATF à ovulação, que apresentaram distribuição não normal, foram avaliadas mediante teste de Mann-Whitney.

Os dados de taxa de ovulação e gestação foram organizados em tabelas de contingência e analisados pelo teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ).

O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto ao número de folículos, classificados de acordo com seu tamanho em folículos < 6mm, 6-8mm e > 8mm, não houve diferença ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos nos dias 0, 8 e 10 para os folículos pequenos e médios e, para os folículos > 8mm foi observada diferença ( $p<0,05$ ) entre tratamentos no D8 (Tabela 1). Dos 10 animais submetidos ao TBE9 seis não ovularam ao final do tratamento. Do D0 ao D8 o protocolo hormonal administrado aos animais foi semelhante, apenas no D8 os grupos foram divididos nos tratamentos TCE8 e TBE9. De acordo com a Tabela 1, observa-se que já havia uma diferença no número de folículos dominantes no D8 para os animais selecionados aleatoriamente para o grupo TCE8, o que sugere que não foi o tratamento que influenciou os resultados de taxa de crescimento folicular e presença de ovulação. Certamente, os animais deveriam ter sido divididos nos dois tratamentos a partir da avaliação do tamanho do folículo dominante no D8 para que se separassem animais nas mesmas condições fisiológicas entre os tratamentos.

Tabela 1 – Média e desvio padrão do número de folículos de acordo com a classificação em folículos pequenos (< 6mm), folículos médios (entre 6-8mm) e folículos dominantes (> 8mm) em função dos tratamentos com CE e BE em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças.

	Dia	Média do número de folículos		
		< 6mm	6 e 8mm	> 8mm
TCE8 (n=10)	0	10,0±3,13	0,2±0,42	0,6±0,52
	8	12,6±8,19	0,1±0,32	0,9±0,32 <sup>a</sup>
	10	7,4±2,5	0,0±0,0	1,0±0,00
TBE9 (n=10)	0	12,8±5,55	0,5±0,53	0,2±0,42
	8	15,2±6,82	0,3±0,48	0,2±0,42 <sup>b</sup>
	10	6,4±5,75	0,2±0,42	0,4±0,52

CE: cipionato de estradiol; BE: benzoato de estradiol; TCE8: tratamento com Cipionato de Estradiol aplicado no dia 8; TBE9: tratamento com benzoato de estradiol aplicado no dia 9.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, dentro do mesmo dia de tratamento, diferem entre si ( $P<0,05$ )

Como esperado, no dia 10 houve aumento no número de folículos dominantes (> 8mm) nos dois protocolos utilizados. Segundo Gimenes et al. (2008) folículos subordinados cessam seu ritmo de crescimento entrando em atresia, enquanto o folículo dominante segue a uma taxa de crescimento constante, até alcançar a capacidade ovulatória. Assim, notou-se que as condições fisiológicas

proporcionadas pelo protocolo de sincronização à base de estradiol e progesterona proporcionaram aumento do número de folículos em crescimento, como descrito por Bó, Baruselli e Martínez (2003) isso é explicado por sincronizarem a emergência de uma nova onda folicular com êxito. Esses protocolos têm sido utilizados com sucesso para controlar a dinâmica folicular e luteal e para sincronizar a ovulação, permitindo IA sem a necessidade de detecção de estro em novilhas (BÓ; BARUSELLI; MARTINEZ, 2003; BARUSELLI et al., 2004; SÁ FILHO et al., 2013).

Os resultados registrados para as taxas de crescimento folicular (mm/dia), o diâmetro do folículo dominante no dia 10, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona da IATF à ovulação e IATF à ovulação estão sumariados na Tabela 2. Não foi verificada diferença na taxa de crescimento folicular para o tratamento com CE e BE ( $p>0,05$ ; Tabela 2). A taxa de crescimento folicular de  $0,81\pm 0,63$  e  $0,89\pm 0,26$  mm para CE e BE, respectivamente, foi semelhante à registrada por Carvalho et al. (2008) para novilhas *B. taurus indicus*, *B. taurus indicus* x *B. taurus taurus* e *B. taurus taurus*, com a utilização de BE no dia 9 como indutor de ovulação, sendo 0,9; 1,2; e 1,1 mm, respectivamente para as subspécies. Os valores verificados neste estudo aproximaram-se da taxa de crescimento em novilhas mestiças que não foram submetidas a protocolos de IATF, como os citados por Borges et al. (2001), que oscilavam entre 1,0 a 1,4 mm/dia, valores que também se aproximam dos animais da raça Nelore tratadas com CE (0,9 mm/dia) (CREPALDI, 2009).

**Tabela 2** – Taxa de crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante no D10, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona da IATF à ovulação e IATF à ovulação (média  $\pm$  desvio-padrão), em função dos tratamentos com CE e BE em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças.

TRAT	Tx. Cresc. Fol. (mm/dia)	Diâm. fol.dom. (mm)	Intervalo à ovulação*	
			Retirada do dispositivo de progesterona (h)	IATF (h)
TCE8	$0,81\pm 0,63$	$10,97\pm 1,24$	$60,60\pm 3,69^a$	$13,20\pm 3,79$
TBE9	$0,89\pm 0,26$	$9,77\pm 1,36$	$74,75\pm 15,17^b$	$23,00\pm 14,28$

CE: cipionato de estradiol; BE: benzoato de estradiol; IATF: Inseminação Artificial em Tempo Fixo; Tx. Cresc. Fol. (mm/dia): taxa de crescimento folicular em mm por dia; Diâm.fol.dom. (mm): diâmetro do folículo dominante em mm no dia 10 do tratamento; TCE8: tratamento com Cipionato de Estradiol aplicado no dia 8; TBE9: tratamento com benzoato de estradiol aplicado no dia 9.

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ( $P<0,05$ )

As reduzidas taxas de crescimento (mm/dia) observadas nas novilhas do experimento estão possivelmente relacionadas às diferenças de padrões endocrinológicos de liberação de LH mediado pelas concentrações circulantes do dispositivo de P<sub>4</sub>.

Não houve diferença no diâmetro do folículo dominante no dia 10 para os tratamentos com CE e BE, conforme verificado na Tabela 2. As fêmeas tratadas com CE obtiveram um diâmetro de  $10,97 \pm 1,24$ mm, enquanto as fêmeas submetidas ao tratamento com BE obtiveram um diâmetro de  $9,77 \pm 1,36$ mm. Vasconcelos et al. (2001) e Ferraz et al. (2010), relacionaram folículos com maiores diâmetros ovulatórios a índices de concepção superiores.

Sá Filho et al. (2013) em um experimento com novilhas *Bos taurus indicus*, que receberam 1mg de CE como indutor da ovulação, na retirada dos implantes de P<sub>4</sub>, obtiveram um folículo no dia 10 com o diâmetro de  $11,3 \pm 0,4$ mm. Colazo, Kastelic e Mapletoft (2003) trabalhando com novilhas mestiças registraram  $11,3 \pm 2,1$ mm no folículo dominante do dia 10, com aplicação de 1mg de CE concomitante a retirada da P<sub>4</sub>. Novamente, Colazo, Kastelic e Mapletoft (2003) em estudo com novilhas mestiças avaliaram o diâmetro do folículo dominante, compararam novilhas tratadas com CE no dia 8 ( $11,3 \pm 2,1$ mm), com novilhas tratadas com BE 24h depois da retirada de P<sub>4</sub> no dia 9 ( $9,8 \pm 1,5$ mm). Todos os trabalhos mencionados acima obtiveram resultados semelhantes ao do presente trabalho.

Borges et al. (2001) estudaram o crescimento folicular ovariano sem o uso de indutores de ovulação, em 26 novilhas mestiças Holandês-Zebu, por meio de acompanhamento ultrassonográfico diário a partir do dia do estro e constataram que os diâmetros máximos dos folículos dominantes foram de aproximadamente 11,7mm, corroborando aos diâmetros para CE e BE, deste experimento.

A utilização de estratégias buscando aumentar o diâmetro do folículo ovulatório são alternativas para melhorar a eficiência dos protocolos de sincronização. A mensuração do folículo pré-ovulatório, é considerado característica importante em protocolos de IATF, pois está relacionado ao tamanho do corpo lúteo e conseqüente produção de progesterona no diestro subsequente, essencial para a manutenção da gestação após a fertilização. Dessa forma, a taxa de prenhez em fêmeas submetidas à IATF pode ser comprometida na indução da ovulação de pequenos folículos, com formação de pequenos corpos lúteos e, por conseguinte,

menor produção de progesterona, sendo que baixos níveis de progesterona circulante suprime o desenvolvimento embrionário inicial (COLAZO; KASTELIC; MAPLETOFT, 2003).

Sendo assim, a utilização de indutores de ovulação que resultem em folículos de maior tamanho, podem incrementar os resultados dos protocolos de sincronização.

Houve diferença no tempo (em horas) da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação entre os tratamentos com CE e BE, conforme verificado na Tabela 2. As fêmeas tratadas com CE ovularam em média  $60,60 \pm 3,69$  horas após a retirada do dispositivo de progesterona, enquanto as fêmeas submetidas ao tratamento com BE ovularam com  $74,75 \pm 15,17$  horas após a retirada do dispositivo de progesterona.

O resultado do uso do CE se assemelham aos obtidos por Lopes et al. (2000), no qual a ovulação em novilhas, ocorreu em média 60 a 62h após a aplicação de CE. Martínez et al. (2002) avaliaram 10 novilhas com o uso do BE 24h como indutor de ovulação e conseguiram média de 72h para esta variável, corroborando aos dados do presente trabalho (Tabela 2).

Todavia, em estudo realizado por Reis et al. (2004), aponta que o uso do cipionato de estradiol no dia 8 em protocolos de IATF como indutor de ovulação em vacas nelore resulta em atraso nas ovulações (acima de 80h), sendo que estas ovulações não foram sincronizadas ( $80,0 \pm 4,8h$ ;  $85,1 \pm 4,4h$ ). Comparando ao estudo de Reis et al. (2004), Martins et al. (2005) em protocolos de IATF encontraram ovulações mais sincronizadas com o uso do BE no dia 9 ( $67,4 \pm 1,69h$ ) quando comparado ao CE no dia 8 ( $76,8 \pm 2,82h$ ). Fato este que não ocorreu no presente experimento.

No presente experimento, o tempo da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação foi maior ( $p < 0,05$ ) para o tratamento com BE quando comparado ao CE (Tabela 2), observa-se que, numericamente, os animais do tratamento CE no dia 8 apresentaram folículos de  $10,97 \pm 1,24mm$  e ovularam mais cedo, enquanto as fêmeas tratadas com BE apresentaram folículos de menor diâmetro ( $9,77 \pm 1,36mm$ ) e ovularam mais tarde (Tabela 2). Segundo Gimenes et al. (2008) quanto maior o tamanho do folículo, menor é o tempo para que estes folículos ovulem.

Não houve diferença quanto ao intervalo da inseminação artificial à ovulação

( $p > 0,05$ ) (Tabela 2). As melhores taxas de concepção se concentram em inseminações realizadas entre 12 e 24h antes da ovulação (SÀ FILHO et al., 2013). Portanto, existe um intervalo de 12h para que as inseminações sejam realizadas, sem que haja comprometimento dos índices reprodutivos (ROELOFS et al., 2006). Verifica-se que mesmo com a variabilidade no tempo entre a IATF à ovulação, no presente estudo, os animais foram inseminados no momento propício, como mostra a tabela 2.

Os resultados para taxa de ovulação e taxa de prenhez para as novilhas mestiças submetidas aos tratamentos com CE e BE estão sumariados na Tabela 3. A taxa de ovulação dos animais tratados com BE foi de 40% ( $p < 0,05$ ) sendo que, dos 10 animais avaliados, seis não responderam ao tratamento. As baixas taxas de ovulação observadas no presente estudo, para este tratamento, podem ser explicadas pela presença de folículos imaturos, incapazes de responder ao pico de LH induzido pela administração do BE. A ausência de crescimento destes folículos ocorre por uma escassez de receptores de LH como apontado por Gimenes et al. (2008), ocorrendo atresia folicular e perda da capacidade ovulatória. Além disso, fatores relacionados à sensibilidade individual à progesterona liberadas pelos dispositivos, podem interferir sobre os resultados da ovulação, por exercer *feedback* negativo sobre aumento da frequência dos pulsos de LH (CARVALHO et al., 2008).

Tabela 3 - Taxa de ovulação (%) e taxa de prenhez (%) em função dos tratamentos com TCE8 e TBE9 em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em novilhas mestiças.

<b>Tratamento</b>	<b>Taxa de Ovulação (%)</b>	<b>Taxa de Prenhez (%)</b>
<b>TCE8</b>	90,00 <sup>a</sup>	37,03 <sup>a</sup>
<b>TBE9</b>	40,00 <sup>b</sup>	37,03 <sup>a</sup>

Comparação de médias pelo teste qui quadrado ( $\chi^2$   $p=0,05$ )

No entanto, é importante ressaltar que, possivelmente, de acordo com a Tabela 1, observa-se que já havia uma diferença no número de folículos dominantes no D8 para os animais selecionados aleatoriamente para o grupo TCE8, o que sugere, que pode não ter sido o tratamento que influenciou o resultado de taxa de ovulação entre os grupos e sim, que já havia uma tendência dos animais do TCE8 em ovularem pela presença do maior número de folículos dominantes no D8.

Dados semelhantes para taxa de ovulação (39,1%) foram registrados por Carvalho (2004) que obtiveram em novilhas *B. taurus indicus*, utilizando BE como indutor de ovulação. Adicionalmente, Cavalieri et al. (2002), trabalhando com novilhas cruzadas e Pegorer (2009) com novilhas nelore, obtiveram taxa de ovulação de 69,6% e 65%, respectivamente.

Em contraste, o aumento taxa de ovulação nas novilhas do tratamento com CE, de 90,0% (Tabela 3) pode estar relacionada ao maior diâmetro do FD. A taxa de ovulação para CE, foi similar às registradas por Rodrigues et al. (2013) e Sá Filho et al. (2013) que induziram a ovulação em novilhas nelore com CE e obtiveram uma taxa de 85% e 81,5%, respectivamente. Para Rodrigues et al. (2013) o CE elevou as concentrações periféricas de estradiol, aumentando, por conseguinte o estímulo ovulatório.

A taxa de prenhez registrada no presente experimento para os dois tratamentos foi de 37,03%. Não houve associação significativa entre tratamento e prenhez. Demonstrando assim que o tratamento não influenciou na prenhez. Meneghetti et al. (2009) também não verificaram diferenças na taxa de prenhez entre vacas de corte que receberam cipionato de estradiol (50,8%) concomitante a remoção do dispositivo de progesterona ou o benzoato de estradiol (51,9%) aplicado 24h depois da remoção do implante. Uslenghi, Chayer e Callejas (2010) não observaram diferenças na porcentagem de prenhez na IATF em novilhas, utilizando 1mg de CE (50%) na retirada do dispositivo de P<sub>4</sub>, em comparação com a administração de BE 24h depois (59%).

Ainda, Chesta et al. (2009a), trabalhando com novilhas mestiças, obtiveram taxa de prenhez de 57,4% quando utilizaram 1mg de CE no D8 concomitante a retirada do dispositivo. Também, em novilhas holandesas, Chesta et al. (2009b) obtiveram 66,3% e 54,4% de prenhez utilizando 1mg de CE na retirada do dispositivo e BE 24h depois, respectivamente, demonstrando diferença entre os tratamentos ( $p < 0,05$ ).

Adicionalmente, os resultados obtidos no presente estudo se encontraram dentro da variação de prenhez, para a implantação de protocolos de IATF, que são de 23,6% à 74,4% (BÓ; BARUSELLI; MARTÍNEZ, 2003 e COLAZO et al., 2004). Apesar desta larga margem, resultados que correspondem à taxa de prenhez acima da média não foram alcançados. No entanto, tem sido relatado que a sincronização

do estro com a utilização do dispositivo de P<sub>4</sub> resulta em uma baixa fertilidade no primeiro serviço (TORRES et al., 2010). Além disso, não deve-se descartar o efeito do clima, se tratando de um ano atípico, veranicos prolongados, início antecipado do período de seca e com a precipitação anual muito abaixo da média, 1190 mm (INCAPER, 2014), o que podem ter prejudicado o desenvolvimento das pastagens e desempenho animal, assim, contribuíram para que não se alcançasse índices próximos de 50%, que seriam ideais. Moreira (2013) relatou que a restrição alimentar prolongada prejudicou a atividade cíclica das novilhas por suprimir a liberação do LH em pulsos de alta frequência, necessários para o crescimento dos folículos ovarianos até o estágio pré-ovulatório.

Adicionalmente, o *stress* também é um importante fator negativo que suprime a secreção de LH (FERREIRA, 2010), e *Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus* são mais temperamentais do que as raças taurinas (MENEHETTI et al., 2009). Motivo pelo qual, justifica a comparação de protocolos com diferentes indutores do estímulo ovulatório, no intuito de reduzir o trabalho e manejo com os animais. Dessa forma Colazo, Kastelic e Mapletoft (2003) avaliaram os efeitos da utilização de CE no dia 8 e BE no dia 9 em novilhas de corte, e relataram que o tratamento com CE poderia ser realizado no momento da retirada do dispositivo de P<sub>4</sub>, e a IATF realizada 48h mais tarde, reduzindo o manejo e *stress*, sem efeitos negativos sobre a taxa de prenhez (63,33%, 63,1% para CE e BE, respectivamente).

Contudo, a utilização de CE na retirada do dispositivo intravaginal, permite reduzir o número de manejos dos animais sem afetar a taxa de prenhez à IATF quando comparada ao BE, em novilhas mestiças de corte ou de leite. Assim, o CE pode substituir o BE como indutor de ovulação em protocolos de IATF, reduzindo trabalho e custo.

## 5. CONCLUSÕES

A utilização do Cipionato de estradiol no dia 8, em protocolos de IATF em novilhas mestiças, resultou em menor tempo para a ovulação a partir da retirada do implante de progesterona.

Não houve diferença na taxa de prenhez de novilhas mestiças submetidas a tratamento com cipionato de estradiol no dia 8 e benzoato de estradiol no dia 9 em protocolos de IATF, no entanto, a utilização do cipionato de estradiol comparado ao benzoato de estradiol, é mais vantajosa visto que reduz o número de manejos, diminuindo o estresse dos animais e otimiza a mão de obra.

## 6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.B.; BERTAN, C.M.; ROSSA, L.A.F.; GASPAR, P.S.; BINELLI, M.; MADUREIRA, E.H. Avaliação da reutilização de implantes auriculares contendo norgestomet associados ao valerato ou ao benzoato de estradiol em vacas nelore inseminadas em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, n.4, p.456-465, 2006.

ALMERAYA, A. P. **Manejo Reproductivo en Bovinos em Sistemas de Producción de Leche**. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de Mexico, 2010.

ANDRADE, B.H.A.; FERRAZ, P.A.; RODRIGUES, A.S.; LOIOLA, M.V.G.; CHALHOUB, M.; RIBEIRO FILHO, A.L. Eficiência do Cipionato de Estradiol e do Benzoato de Estradiol em Protocolos de Indução da Ovulação Sobre a Dinâmica Ovariana e Taxa de Concepção de Fêmeas Nelore Inseminadas em Diferentes Momentos. **Archives of Veterinary Science**, v.17, n.4, p.70–82, 2012.

AYRES, H.; MARTINS, C.M.; FERREIRA, R.M.; MELLO, J.E.; DOMINGUEZ, J.H.; SOUZA, A.H.; VALENTIN, R.; SANTOS, I.C.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v.109, n.1-4, p.77-87, 2008.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrusbeef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, n.3, p.486-497, 2004.

BARUSELLI, P.S.; AYRES, H.; SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; GIMENES, L.U.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, **Anais...** Londrina, PR: Editora Londrina, 2006, p.103-136.

BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31 n.2, p.205–211, 2007.

BINELLI, M.; IBIAPINA, B.T.; BISINOTTO, R.S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas de sincronização de crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, n.1, p.1-7, 2006.

BÓ, G.A.; HOCKLEY, D.K.; NASSER, L.F.; MAPLETOFT, R.J. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. **Theriogenology**, v.42, n.6, p.963–975, 1994.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTÍNEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, n.3, p.307-326, 2003.

BÓ, G.A.; COLAZO, M.G.; MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación em animales tratados com progesteragenos y diferentes esterios de estradiol. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA – Biotecnologia da Reprodução em Bovinos, **Anais...** Curitiba, PR: Editora Paraná, 2006. p.201

BORGES, Á.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M.; ROCHA JÚNIOR, V.R.; CARVALHO, G.R. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.595–604, 2001.

CARVALHO, J.B.P. **Sincronização da ovulação com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) em novilhas *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus* e *Bos taurus***. 2004. 122f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, n.5, p.167-175, 2008.

CAVALIERI, J.; COLEMAN, C.; RODRIGUES, H.; MACMILLAN, K.L.; FITZPATRICK, L.A. The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronised with a progesterone releasing intravaginal insert. **Australian Veterinary Journal**, v.80, n.4, p.217-223, 2002.

CHAVES, R.N. **Efeito do fator de crescimento do nervo (NGF), fator de crescimento de fibroblasto - 10 (FGF-10) e insulina sobre o desenvolvimento in vitro de folículos pré antrais caprinos**. 2011. 391f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2011.

CHESTA, P.; BRANDAN, A.; CUESTAS, G.; QUIÑONES, G.; LOZANO, P.; TRÍBULO, P. Evaluación de diferentes dosis de cipionato de estradiol sobre la tasa de preñez em inseminación artificial a tiempo fijo em vaquillonas de 15 meses de edad. In: VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, **Anais...**Córdoba, AG: Editora IRAC, 2009a. p.13

CHESTA, P.; FILIPPI, L.; RAMOS, M.; RACCA, D.; BÓ, G.; Evaluación de las tasas de preñez em protocolos de inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) utilizando diferentes dosis de cipionato de estradiol em vaquillonas holando. VIII SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, **Anais...** Córdoba, AG: Editora IRAC, 2009b. p.12

COELHO, W.S.; RIBEIRO, A. P.C.; RIBEIRO, G.M. Influência do reaproveitamento de implantes de progesterona nas taxas de gestação de vacas nelore submetidas a protocolo de IATF na região da Amazônia legal. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO

CIENTÍFICA DA UFT, **Anais...** Palmas, TO: Editora Palmas, 2012. p.1-5

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 AL programs in beef heifers. **Theriogenology**, v.60, n.5, p.855-865, 2003.

COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; WHITTAKER, P.R.; GAVAGA, Q.A.; WILDE, R.; MAPLETOFT, R.J. Fertility in beef cattle given a new or previously used CIDR insert na estradiol, with or without progesterone. **Animal Reproduction Science**, v.81, n.1, p.25-34, 2004.

COUTINHO, G.T.R. M.; VIANA, J.H.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.; FERREIRA, A.M.; PALHÃO, P.M.; NOGUEIRA, L.A.G. Avaliação ultrassonográfica da dinâmica folicular e lútea em vacas da raça guzerá. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.5, p.1089-1096, 2007.

CREPALDI, G.A. **Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalos de inseminação em vacas de corte submetidas à IATF**. 2009. 88f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

DIAS, C.C.; WECHSLER, F.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  treatment affect fertility in postpubertal nelore heifers. **Theriogenology**, v.72, n.3, p.378-385, 2009.

DOMINGUEZ, J.H.E. **Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte**. 2009. 27f. Trabalho acadêmico (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2009.

FERRAZ, P.A.; RODRIGUES, A.S.; LOIOLA, M.V. G.; ANDRADE, B.H.A.; CHALHOUB, M.; BITTENCOURT, R.F.; RIBEIRO FILHO, A.L. Diâmetro do folículo pré-ovulatório no momento da inseminação artificial em tempo fixo em vacas nelore. In: XXIV REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, **Anais...** Porto de Galinha, PE: Editora Acta Scientiae Veterinariae, 2010. p.81

FERREIRA, A.M. **Reprodução da Fêmea Bovina: Fisiologia aplicada e Problemas mais comuns (causas e tratamentos)**. 1ª ed., Juiz de Fora: Editora Editar, 2010. 422p.

FUCK, E.J.; MORAES, G.V.; MARTINS, E.N.; RODRIGUES C.M.; CARDOZO, R, M.; BARROS, C.M. Uso da gonadotrofina coriônica equina (ecg) em receptoras de embriões para avaliar o incremento da progesterona endógena no dia da involução e sua correlação coma taxa de prenhez. **Acta Scientarium**, v.24, n.4, p.1119-1126, 2002.

GIMENES, L.U.; SÁ, FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES JUNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P. S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.69, n.7, p.852-858, 2008.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F.X.; BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v.78, n.3, p.239-257, 2003.

GIOMETTI, I.C.; CASTILHO, A.C.S.; SÁ FILHO, O.G.; PAPA, P.C.; BURATINI JÚNIOR.; J. Controle local e endócrino do desenvolvimento e da regressão do corpo lúteo bovino. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.1, p. 34-52, 2009.

GOTTCHALL, C.S.; SCHULER, M.V.; MARTINS, C.T.D.C.; ALMEIDA, M.R.; MAGERO, J.; SOARES, J.C.R.; GREGOR, R. M. Efeitos do uso de GNRH no momento da IATF e dias pós-parto sobre a taxa de prenhez em vacas de corte com cria ao pé. **Veterinária em Foco**, v.7, n.2, p.124–134, 2010.

GREGORY, R.M.; MELO, L.C.; BESKOW, A.; MATTOS, R.C.; JOBIM, M.I.M.; GREGORY, J.W. Dinâmica folicular e uso de hormonioterapias na regulação do ciclo estral. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 33, n.6, p.148-152, 2009.

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 7ª ed., Barueri: Editora Manole, 2004. 513p.

INCAPER. Instituto capixaba de pesquisa, assistência técnica e extensão rural. **Centro Capixaba de Meteorologia e Recursos Hídricos – CECAM**. 2014

LOPES, F.L.; ARNOLD, D.R.; WILLIAMS, J.; PANCARCI, S.M.; THATCHER, M.J.; DROST, M.; THATCHER, W.W. Use of estradiol cypionate for timed insemination. **Journal Dairy Science**, v.83, n.2 p.214, 2000.

MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Control of ovarium function for assisted reproductive and technologies in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.6, n.1, p.114-124, 2009.

MARTÍNEZ, M.F.; COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; MAOLETOFT, R.J. Effects o estradiol-17 $\beta$  or estradiol benzoate on follicular dynamics in CIDR-B-treated beef heifers. **Theriogenology**, v.57, n.1, p.382, 2002.

MARTINS, C.M.; CASTRICINI, E.S.C.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; BARUSELLI, P.S. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com cipionato ou benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. In: XIX REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, **Anais...** Angra dos Reis, RJ: Editora Acta Scientiae Veterinariae, 2005. p. 285

MARTINS, C.M. **Diferentes de protocolos de superovulação com inseminação**

**artificial em tempo fixo em *Bos taurus* e *Bos indicus*.** 2007. 115f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

McMANUS, C.; SAUERESSING, M.G.; FALCÃO, R.A.; SERRANO, G.; MARCELINO, K.R.A.; PALUDO, G.R. Componentes reprodutivos e produtivos no rebanho de corte da empresa cerrados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, p.648–657, 2002.

MENEGHETTI, M.; MIGUEL, J.C. Addition of eCG on a fixed timed artificial insemination protocol in the conception rate of cycling nelore heifers. In: XXII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, **Anais...** Guarujá, SP: Editora Acta Scientiae Veterinariae, 2008. p.638

MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J. L. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, n.2, p.179-189, 2009.

MOREIRA, L.D.Z. **Indução da puberdade em novilhas da raça nelore com progesterona veiculada em matriz polimérica.** 2013. 54f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2013.

OLIVEIRA, J.F.C. GONÇALVES P.B.D.; FERREIRA, R.; GASPERIN, B.; SIQUEIRA, L.C. Controle sobre GnRH durante o anestro pós-parto em bovinos. **Ciência Rural**, v.40, n.2, p.2623-2631, 2010.

OLIVEIRA, M.E.F.; FERREIRA, R.M.; MINGOTI, G.Z.R. Controle do crescimento e da seleção folicular por fatores locais e sistêmicos na espécie bovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.35, n.4, p.418-432, 2011.

PALHÃO, M.P.; PIEDADE, C.S.; ARAÚJO, H.L.; FERNANDES, C.A.C.; GUIMARÃES, C.R.B.; RIBEIRO, J.R.; REIS, W.S.M.; VIANA, J.H.M. Sincronização folicular e vascularização do folículo dominante em novilhas mestiças tratadas com estradiol. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.21, n.2, p.117-121, 2014.

PEGORER, M.F. **Taxas de ovulação e prenhez em novilhas Nelore cíclicas após utilização de protocolos para inseminação artificial em tempo fixo (IATF), com diferentes concentrações de progesterona, associadas ou não a aplicação de eCG.** 2009. 89p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

PEREIRA, C.H. **Luteólise antecipada em protocolo de inseminação artificial a tempo fixo com progesterona em vacas no pós parto.** 2010. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

PERES, R.F.G.; CLARO JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O.G.; NOGUEIRA, G.P.; VASCONCELOS, J.L.M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal

heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.72, n.5, p.681-689, 2009.

PFEIFER, L.F.M.; CORRÊA, M.N.; SCHMMIT, E.; VIEIRA, M.B.; MADRUGA, E.Á.; RABASSA, V.R. Uso de PGF<sub>2α</sub> associado ao benzoato de estradiol para inseminação artificial em tempo-fixado em vacas leiteiras. **Revista brasileira Agrociência**, v.11, n.3, p.347-350, 2005.

REIS, E.L.; GIMENES, L.U.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R. J.; BARUSELLI, P.S. Efeitos do cipionato e do benzoato de estradiol na dinâmica folicular e luteínica de vacas Nelore. In: XVIII REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, **Anais...** Barra Bonita, RJ: Editora Acta Scientiae Veterinariae, 2004. p.236

RODRIGUES, A.D.P.; PERES, R.F.G.; LEMES, A.P.; MARTINS, T.; PEREIRA, M.M. H.C.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Profesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal nellore heifers. **Theriogenology**, v.79, n.1, p.135-141, 2013.

ROELOFS, J.B.; GRAAT, E.A.M.; MULLAART, E.; SOEDE, N.M.; VOSKAMP-HARKEMA, W.; KEMP, B. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v.66, n.9, p.2173-2181, 2006.

SÁ FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; SIQUEIRA, G.R.; SOARES, J.G.; MENDANHA, M.F.; MACEDO, G.G.; BARUSELLI, P.S. Timed artificial insemination should be performed early when used norgestomet ear implants are applied for synchronizing ovulation in beef heifers. **Theriogenology**, v.80, n.6, p.642-647, 2013.

SALLES, M.G.F.; ARAÚJO, A.A. Corpo lúteo cíclico e gestacional: revisão. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.34, n.3, p.185-194, 2010.

SANTOS, K.J.G. **Efeito da progesterona na produção de embriões em novilhas Gir e Girolando**. 2010. 114f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

SENGER, P.L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2ª ed., Washington: Editora Current Conceptions, 2003. 287p.

SILVA, A.S.L.; TEIXEIRA, P.P.M.; VICENTE, W.R.R. Mecanismos fisiológicos e bioquímicos da luteólise: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça. Ano.8, n.15, Jul. 2010. Disponível em: <http://www.revista.inf.br/veterinaria15/revisao/ANOIIIEDI15RL04.pdf>. Acesso em: 02 de julho de 2014.

SOUZA, A.H.; CUNHA, A.P.; CARAVIELLO, D.Z.; WILTBANK, M.C. Profiles of circulating estradiol-17β after different estrogen treatments in lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.2, n.4, p.224-232, 2005.

STELLA, D.E. **Bases gerais da sincronização de estro visando à inseminação**

**artificial em tempo pré-determinado em fêmeas bubalinas.** 2004. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2004.

TORRES-JÚNIOR, J.; MELO, W.; ELIAS, A.; RODRIGUES, L.; PENTEADO, L.; BARUSELLI, P.S. Considerações técnicas e econômicas sobre reprodução assistida em gado de corte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.33, n.1, p.53-58, 2009.

TORRES, J.A.P.; LÓPEZ, J.R.A.; CASTRO, F.G.C.; MONFORTE, J.G.M. Comparación del cipionato de estradiol vs benzoato de estradiol sobre La respuesta a estro y tasa de gestación em protocolos de sincronización com cidr em novillas y vacas *Bos indicus*. **Universidad y ciência**, v.26, n.2, p.163-169, 2010.

USLENGHI, G.; CHAYER, R.; CALLEJAS, S. Efectividad del cipionato de estradiol injectado al final de um tratamiento com progesterona sobre la eficiencia reproductiva. **Revista Veterinária**, v.21, n.1, p.55-58, 2010.

VASCONCELOS, J.L.; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUENTHER, J.G.; WHILTBANK, M.C.; Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. **Theriogenology**, v.56, n.2, p.307–314, 2001.

VEIGA, P.; MONTIEL, J.; CHAYER, R.; USLENGHI, G.; CALLEJAS, S. Efecto de diferentes ésteres de estradiol usados para sincronizar La ovulación sobre El porcentaje de preñez post IATF em vaquillonas Angus. **InVet**, v.33, n.2, p.39-45, 2011.

VERCESI FILHO, A.E.; MADALENA, F.E.; ALBUQUERQUE, L.G.; FREITAS, A.F.; BORGES, L.E.; FERREIRA, J.J.; FARIA, F.J.C. Parâmetros genéticos entre características de leite, de peso e a idade ao primeiro parto em gado mestiço leiteiro (*Bos taurus* x *Bos indicus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, n.4, p.983–990, 2007.

VOGG, G.C. **Viabilidade do uso de benzoato de estradiol 24 horas após a sincronização de cios de novilhas de 14 e 24 meses com pessários contendo acetato de medroxi-progesterona.** 1999. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.