

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
KENIO PATRICIO LIMA DE OLIVEIRA

**“COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE INDUÇÃO E
SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO EM VACAS
LEITEIRAS MESTIÇAS NO ANESTRO PÓS-PARTO”**

Fortaleza, CE
Outubro de 2003

Universidade Estadual do Ceará
Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

AUTOR: Kenio Patricio Lima de Oliveira

**“COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE INDUÇÃO E
SINCRONIZAÇÃO DO ESTRO E DA OVULAÇÃO EM VACAS
LEITEIRAS MISTIÇAS NO ANESTRO PÓS-PARTO”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo.

Fortaleza, CE
Outubro de 2003

Universidade Estadual do Ceará
Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias

Título do Trabalho: “Comparação de Dois Métodos de Indução e Sincronização do Estro e da Ovulação em Vacas Leiteiras Mestiças no Anestro Pós-Parto”

Autor: Kenio Patrício Lima de Oliveira

Aprovada em 24 / 10 / 2003

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo
Orientador

Prof. Dr. Davide Rondina
Examinador

Prof. Dr. Cláudio Cabral Campelo
Examinador

**A Mário Lima Rocha (*in memoriam*),
meus amigos e familiares e à Medicina
Veterinária**

Dedico.

“Tentar e falhar é, pelo menos, aprender. Não chegar a tentar, é sofrer a inestimável perda do que poderia ter sido.”

Geraldo Eustáquio.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que em todos os momentos está presente em nossa existência e nos dá força para continuarmos na luta por nossos ideais;

Ao Prof. Dr. Airton Alencar de Araújo, pela confiança, paciência em me orientar e por servir de exemplo profissional e pessoal;

A Péricles Afonso Montezuma Júnior pela amizade, pelo aprendizado, pelos trabalhos e por um futuro próspero;

Aos familiares, pelo apoio durante esta etapa da minha vida;

À Vanessa Menezes Duarte, pela compreensão, paciência e por estar presente em todos os momentos;

Aos Amigos Aníbal Ballarotti Nascimento, José Luiz Filho, Vandberg Bráz, Virgílio Vieira, Faviano Moreira, Annice e Annira Aquino Cortez, Michele Silva e Vanessa Machado, pelos bons momentos e apoio nas horas em que precisei;

A CIALNE, por ceder toda estrutura física, animais e funcionários para a realização deste trabalho;

Ao PPGCV pela oportunidade de realizar um curso de pós – graduação;

A CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro;

A Intervet pela doação de hormônios para a pesquisa.

RESUMO

Foi avaliada a eficiência de dois protocolos de indução e sincronização do estro e da ovulação (CRESTAR E OVSYNCH) em 50 vacas leiteiras mestiças e em anestro pós-parto. Os animais foram distribuídos em dois grupos, onde o primeiro (n=24) foi submetido ao tratamento CRESTAR, que consiste na aplicação de implante auricular de 3mg de Norgestomet, associado à aplicação intramuscular (IM) de 6mg de Norgestomet e 10mg de valerato de estradiol, procedendo-se a retirada do implante nove dias depois, com a aplicação (IM) de 500 UI de eCG e a inseminação (IA), 40 horas após; o segundo (n=26), submetido ao tratamento OVSYNCH, onde foi aplicado 2,5ml de GnRH, após sete dias, foi administrado 2ml de Prostaglandina e no dia nove, aplicado uma segunda dose do GnRH (IM), com IA 14 horas após esta aplicação. O diagnóstico de gestação (DG) foi realizado 60 dias após a primeira e segunda IA. Também foi avaliado o custo/benefício de cada protocolo. Todas as fêmeas tratadas em ambos protocolos apresentaram cio (100%). O tratamento CRESTAR mostrou-se mais eficiente no tocante à taxa de prenhez na primeira IA ($P < 0,05$), mas quando foi avaliada a taxa de prenhez na segunda IA, não foi verificada diferença estatística entre os tratamentos. Os resultados encontrados permitem concluir que o protocolo CRESTAR apresentou-se mais eficiente por obter melhores taxas de prenhez com apenas uma IA e por se tratar de protocolo com preço mais acessível.

ABSTRACT

It was evaluated the efficiency of two protocols of induction and synchronization of the estrus and of the ovulation (Crestar and Ovsynch) in 50 dairy cows and in post-partum anoestrus. The animals were distributed in two groups, where the first (n=24) it was submitted to the treatment Crestar, that consists of the application of it implants headphone of 3mg of Norgestomet, associated to the application of 6mg of Norgestomet and 10mg of estradiol valerato, being proceeded the retreat of the it implants later nine days, together with the application of 500 UI of eCG, with insemination 40 hours after this application; the second (n=26), submitted to the treatment Ovsynch, where it was applied 2,5ml of GnRH, after seven days, it was administered 2ml of Prostaglandin and on the nine, applied one second dosis of GnRH, with it insemination 14 hours after this application. The gestation diagnosis it was accomplished 60 days after the first and second insemination. The cost/benefit of each protocol was also evaluated. High number of females was observed in estrus (100%). The treatment Crestar showed more efficient concerning the pregnancy rate in the first insemination ($P < 0,05$), but when it is evaluated also including the pregnancy rate on second insemination, difference statistics was not verified among the treatments. The found results allow concluding that the protocol Crestar came more efficient for obtaining better pregnancy rates with just one insemination and for treating of protocol with more accessible price.

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO.....	1
2- REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1- Ciclo Estral.....	3
2.2- Dinâmica Folicular.....	6
2.2.1- Crescimento e Desenvolvimento Folicular Ovariano.....	6
2.2.2- Dinâmica Folicular Ovariana Durante o Ciclo Estral nos Bovinos.....	9
2.2.3- Controle Hormonal da Dinâmica Folicular Ovariana.....	15
2.2.3.1- Hormônios Esteróides.....	16
2.2.3.2- Hormônios Gonadotróficos.....	17
2.2.3.3- Outros Fatores Envolvidos.....	19
2.2.4- Alterações Fisiológicas no Pós-Parto.....	19
2.3- Anestro.....	21
2.4- Terapia Hormonal.....	23
3- JUSTIFICATIVA.....	27
4- OBJETIVOS.....	28
5- MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
5.1- Localização do Experimento.....	29
5.2- Animais Experimentais.....	29
5.3- Delineamento Experimental.....	30
5.4- Análise Estatística.....	32
5.5- Análise Econômica.....	33

6- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
7- CONCLUSÕES.....	40
8- PERSPECTIVAS.....	41
9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
10- ANEXOS.....	53

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ARNm – Ácido Ribonucléico Mensageiro;
CL – Corpo Lúteo;
E₂ – Estrógeno;
eCG – Gonadotrofina Coriônica Eqüina;
EGF – Fator de Crescimento Epidermal;
FGF – Fator de Crescimento Fibroblástico;
FSH – Hormônio Folículo Estimulante;
FUNCEME – Fundação Cearense de Meteorologia;
GnRH – Hormônio Gonadotrófico;
h – Hora;
HCG – Gonadotrofina Coriônica Humana;
IA – Inseminação Artificial;
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística;
IGFI – Fator de Crescimento da Insulina – 1;
IGFII – Fator de Crescimento da Insulina – 2;
IGFbp – Proteína Ligadora do IGF;
Kg – Quilograma;
LH – Hormônio Luteinizante;
LTH – Hormônio Luteotrófico;
mg – Miligramas;
ml – Mililitros;
mm – Milímetros;
µg – Micrograma;
n – Número de Observações;
ng/ml – Nanograma por ml;
P₄ – Progesterona;
PGF₂α – Prostaglandina F 2 α;
pg/ml – Picograma por ml;
PIF – Fator Inibidor de Prolactina;

PMSG – Gonadotrofina Sérica da Égua Prenhe;

TGF α – Fator Transformador de Crescimento α ;

TGF β – Fator Transformador de Crescimento β ;

UI – Unidades Internacionais;

vs – Versus.

LISTA DE FIGURAS, TABELAS E ANEXOS

Fig 1- Esquema dos sintomas do estro.....	05
Fig 2- Esquema das trocas hormonais no eixo Hipotálamo-Hipófise-Ovários-Útero.....	06
Fig 3- Esquema da aparição de uma onda folicular e sua relação hormonal com FSH, LH e Progesterona.....	09
Fig 4- Esquema de recrutamento, seleção e dominância folicular em padrão de duas ondas foliculares.....	10
Fig 5- Padrão de três ondas foliculares durante o ciclo estral e concentrações de P ₄	14
Fig 6- Esquema dos padrões hormonais durante o ciclo estral.....	16
Fig 7- Padrão de ondas foliculares e concentração de P ₄ no pós – parto.....	21
Fig 8: Esquema do protocolo <i>OVSYNCH</i>	30
Fig 9: Esquema do protocolo <i>CRESTAR</i>	31
Fig 11: Como aplicar o implante de <i>CRESTAR</i>	32
Tabela 1: Qualidade do estro de vacas leiteiras mestiças, em anestro pós-parto, submetidas aos tratamentos hormonais <i>CRESTAR</i> e <i>OVSYNCH</i>	35
Tabela 2: Eficiência dos tratamentos hormonais <i>CRESTAR</i> e <i>OVSYNCH</i> na atividade reprodutiva de vacas leiteiras mestiças em anestro pós-parto, com uso da inseminação artificial.....	35
Anexo 1- Animais experimentais – 3/8 Holandês/5/8 Gir.....	53
Anexo 2- Sombreamento natural e artificial nos piquetes.....	53
Anexo 3- Hormônios e material utilizado no protocolo <i>OVSYNCH</i> ...	54

Anexo 4- Hormônios utilizados no protocolo CRESTAR.....	54
Anexo 5- Animais em estro.....	55
Anexo 6- Muco no momento da inseminação artificial.....	55
Anexo 7- Diagnóstico de gestação por palpação retal.....	56
Anexo 8- Ovário com folículos pequenos, característico de anestro pós – parto.....	56
Anexo 9- Produção de leite por vaca, de acordo com os Estados e Regiões.....	57
Anexo 10- Produção Brasileira de leite, de acordo com os Estados e Regiões.....	58
Anexo 11- Ficha de exame ginecológico – triagem dos animais.....	59
Anexo 12- Ficha de observação do estro.....	59
Anexo 13- Ficha de acompanhamento das IA's.....	60

1- INTRODUÇÃO:

O Brasil possui 153,06 milhões de bovinos, dos quais 53,15 milhões são fêmeas, com mais de dois anos (IBGE 1996) e 13,72 milhões são vacas leiteiras com produção média de 1.300 L/vaca/ano (VILELA *et al.*, 1999). A baixa produtividade dos rebanhos é atribuída, em parte, ao longo intervalo entre partos, sendo o período correspondente ao anestro pós-parto influenciado por uma série de fatores, como a nutrição, a condição corporal (FERREIRA, 1993) e a sanidade do rebanho, bem como a lactação e o manejo reprodutivo (MONTEZUMA JR, 2001).

HAMUDIKUWANDA *et al* (1987) observaram que um fator limitante da produtividade e de lucratividade de rebanhos leiteiros é a eficiência reprodutiva. O lucro de um programa reprodutivo é maximizado quando a maioria das vacas exibe desempenho reprodutivo ótimo, sendo que um intervalo entre partos de 12 a 13 meses é geralmente considerado economicamente ideal.

A nutrição influencia significativamente as funções reprodutivas em vacas de alta produção leiteira. Um manejo nutricional deficiente antes e após a parição afeta o crescimento folicular e o diâmetro de folículos dominantes no pós-parto em função de uma liberação insuficiente de gonadotrofinas hipofisárias, aumentando a ocorrência de anestro (COSTUMIER, 1996; PETIT *et al.* 1993). O anestro pós-parto está associado geralmente a possíveis falhas na nutrição ou sanidade, mas há casos em que a hormonioterapia pode ser utilizada quando a produção endógena de hormônios é deficiente sem identificação dos fatores etiológicos (GRUNERT, 1979).

A otimização do período de anestro pós-parto depende do rápido restabelecimento da atividade ovariana acompanhado de retorno imediato da ciclicidade. Durante o anestro pós-parto, a concentração de progesterona é muito reduzida (HAFEZ, 1995). Por este motivo, alguns pesquisadores vêm usando progestágenos objetivando simular a ação de um corpo lúteo artificial para restabelecer a atividade ovariana, seguida de retorno da ciclicidade (OLIVEIRA *et al*, 1999).

Uma outra vantagem da utilização dos protocolos hormonais é a programação dos partos para períodos do ano onde a demanda do leite é maior que a oferta e sua comercialização e preço são otimizados. A utilização de hormônios sintéticos permite o retorno da atividade reprodutiva sem prejuízos para a fisiologia do animal (MONTEZUMA JR, 2001).

Os protocolos hormonais atualmente utilizados baseiam-se na associação do GnRH e prostaglandinas – *OVSYNCH* (PURSLEY *et al.*, 1995) ou na associação de progesterona, estrógenos e eCG – *CRESTAR* (MURTA *et al*, 2001). Estes protocolos podem servir para vários objetivos: sincronização do estro em fêmeas cíclicas, redução do anestro pós-parto, tratamentos da doença ovariana cística e cistos luteinizados etc. Portanto, a hormonioterapia controlada quando bem aplicada nos rebanhos poderá contribuir para o aumento da eficiência reprodutiva, considerando sempre que a relação custo/benefício seja favorável ao produtor.

2- REVISÃO DE LITERATURA:

2.1- Ciclo Estral:

Durante a vida reprodutiva, o trato genital feminino é submetido a modificações morfofisiológicas que ocorrem sempre na mesma ordem e reaparecem periodicamente de acordo com um ritmo bem definido para cada espécie. Estas modificações são conhecidas como ciclo estral e iniciam-se na puberdade, prosseguem durante toda a vida reprodutiva sexual, sendo na fêmea bovina interrompida unicamente pela gestação. Estas modificações são dependentes da produção cíclica dos hormônios ovarianos (estrógeno e progesterona) que, por sua vez, estão sob o controle dos hormônios gonadotróficos hipofisários – FSH e LH (DERIVAUX & ECTORS, 1985).

A atividade reprodutiva da fêmea bovina inicia-se quando, na puberdade, o animal apresenta cerca de 40 a 45% do peso de um adulto. A fêmea bovina é considerada como poliéstrica contínua, isto é, o ciclo estral não é interrompido por modificações estacionais. Este ciclo dura em média 21-22 dias em vacas adultas e 20 dias em novilhas (MORROW *et al.*, 1970; KNICKERBOCKER *et al.*, 1986).

Em relação às modificações que ocorrem durante o ciclo estral, pode-se, distinguir 4 fases: pró-estro, estro, metaestro e diestro (MIES FILHO, 1981; HOPKINS, 1989). Do ponto de vista fisiológico o ciclo estral da vaca caracteriza-se como bifásico: uma fase folicular que corresponde ao período de recrutamento, seleção e dominância folicular, com secreção de estrógenos até a ovulação, e a fase luteal (fase de secreção da progesterona), que se estende da ovulação até a regressão funcional do corpo lúteo (HANSEL & CONVEY, 1983).

O pró-estro dura em torno de 3 dias, iniciando pelas modificações degenerativas do corpo lúteo. Nesta fase ocorrem os fenômenos proliferativos gerais. Os folículos ovarianos aumentam de volume pela ação das gonadotrofinas hipofisárias e sob a ação do estrógeno produzido por estes folículos, o endométrio e as paredes vaginais se espessam com aumento da irrigação sanguínea (HOPKINS, 1989).

O estro dura aproximadamente 18 horas nas raças européias, mas nas raças zebuínas, encontra-se períodos mais curtos. A presença do touro pode abreviar esta fase e condições nutricionais e/ou ambientais tendem a suprimir os sinais de estro devido à reduzida secreção do estrógeno. (SAMBRAUS, 1978).

Nesta fase, ocorre o auge do crescimento folicular, acentuando-se os fenômenos proliferativos gerais iniciados no pró-estro. Esta fase é de grande importância prática, pois os sinais externos do estro tornam-se perceptíveis como inquietude e busca de contato (monta em outras fêmeas), mungidos freqüentes, eliminação de muco pela vagina, hiperemia do vestíbulo vaginal e desencadeamento da receptividade sexual (HOPKINS, 1989). A ovulação é uma resposta ovariana à secreção de 17β estradiol e ao pico pré-ovulatório do LH e ocorre em torno de 30 horas após o início do estro, ou seja, entre 10 a 12 horas após o fim do estro (PETERS & BALL, 1994).

Fig 1- Esquema dos sintomas do estro.

O metaestro caracteriza-se pela formação do corpo lúteo e pelas conseqüentes modificações hormonais, pois este passa a secretar progesterona que irá provocar alterações secretoras no endométrio, cérvix e vagina. Esta fase dura aproximadamente 3-4 dias (MIES FILHO, 1982).

O diestro tem duração de aproximadamente 10 a 13 dias e caracteriza-se por ser um período de inatividade sexual, estando relacionado com o estágio de secreção do corpo lúteo (progesterona) que bloqueia o eixo hipotalâmico-hipofisário para liberações pulsatéis de FSH e LH (MIES FILHO, 1982).

No final do diestro, por volta do 17º dia do ciclo, não ocorrendo a implantação de um embrião, o endométrio secreta uma prostaglandina ($PGF2\alpha$) que induz o processo de involução do corpo lúteo reiniciando, portanto, um novo ciclo (SHEMESH & HANSEL, 1975).

Fig 2- Esquema das trocas hormonais no eixo Hipotálamo-Hipófise-Ovários-Útero.

2.2- Dinâmica Folicular:

2.2.1- Crescimento e Desenvolvimento Folicular Ovariano:

O início da função ovariana em bovinos ocorre durante o desenvolvimento fetal. Os folículos primordiais começam a crescer em resposta a um estímulo desconhecido (WEBB *et al.*, 1992) e continuam o seu desenvolvimento até a ovulação, ou entram em atresia. Na vaca, o tempo estimado para que um folículo cresça de 0,13 até 8,56 mm é de aproximadamente 41,5 dias, o equivalente a dois ciclos estrais (LUSSIER *et al.*, 1987).

Desconhece-se o fator ou os fatores que determinam as fases iniciais de crescimento folicular no ovário em um determinado momento. O destino de um folículo pode ser permanecer quiescente, começar a desenvolver-se e entrar em atresia, ou amadurecer e ovular. Em mamíferos, o número de folículos primordiais presentes nos ovários ao nascer ou no período imediato ao nascimento, depende da espécie.

Na espécie bovina, entre 40.000 a 80.000 folículos primordiais são encontrados nos ovários ao nascimento, mas esse número se reduz para aproximadamente 3.000 entre os 15 a 20 anos de idade (ERICKSON, 1966). A grande maioria dos folículos primordiais (cerca de 99%), não são ovulados durante a vida do animal porque o desenvolvimento de um folículo ovulatório é um fato biológico raro e a foliculogênese é um processo complexo (IRELAND, 1987).

O ciclo reprodutivo na fêmea é mantido através de interações endócrinas. A função dos hormônios pituitários folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) é dirigir o recrutamento, crescimento, atresia e ovulação dos folículos (RICHARDS & HEDIN, 1988).

O ovário tem duas funções principais: produção dos oócitos e prover o ambiente hormonal adequado para manter a função reprodutiva através da produção de hormônios esteróides, tais como progesterona (P4), 17- β -estradiol (E2) e outros fatores reguladores. A secreção de gonadotrofinas influi no desenvolvimento de folículos no ovário. O crescimento folicular é um processo mediante o qual o folículo adquire progressivamente características peculiares, cada uma das quais é um pré-requisito essencial para o seu posterior desenvolvimento. A falha na aquisição destas propriedades, no momento exato e na seqüência exata, conduz a falha do processo e há degeneração do folículo, que o leva a atresia (CAMPBELL *et al.*, 1995).

A formação do antro ocorre quando o folículo tem um diâmetro entre 0,14 e 0,28 mm no bovino e o folículo leva 40 dias para alcançar o tamanho ovulatório (LUSSIER *et al.*, 1987). Nos bovinos há uma hierarquia marcada na população de folículos antrais com um grande número de folículos (20 a 30 folículos de 3 a 4 mm de diâmetro) que têm a capacidade de responder as gonadotrofinas, ainda que não necessitem delas. Outro grupo de folículos (1 a 4 folículos > 4 a 5 mm) depende das gonadotrofinas para o seu desenvolvimento (CAMPBELL *et al.*, 1995).

Esquemáticamente o desenvolvimento de folículos antrais envolve duas fases. Na primeira, estes folículos crescem lentamente (3 a 4 mm na vaca), sendo que a taxa de crescimento folicular está relacionada à taxa de proliferação de células da granulosa e não depende realmente dos hormônios gonadotróficos. A segunda fase de crescimento depende da secreção de gonadotrofinas. Caracteriza-se por um rápido crescimento folicular, principalmente devido ao aumento do tamanho do antro folicular e corresponde ao desenvolvimento final de folículos antrais até folículos pré-ovulatórios. Durante esta fase, aumenta a capacidade esteroidogênica e a sensibilidade das células da granulosa a FSH e ao LH. Observa-se, em ruminantes domésticos, que a etapa de crescimento folicular está associada com oscilações nas concentrações de FSH, o que sugere a existência de um efeito estimulante do FSH sobre a emergência de cada onda folicular (MONNIAUX *et al.*, 1997).

De acordo com GOODMAN & HODGEN (1983), o recrutamento é um evento dependente de gonadotrofinas, durante o qual um grupo de folículos adquire a habilidade para responder aos hormônios gonadotróficos e depende deles para um crescimento contínuo. A seleção é um processo pelo qual só uns poucos folículos recrutados são selecionados para escapar do processo de atresia e sobreviver para ovular. No bovino, seleção se define como um momento no qual um folículo estrógeno – ativo promove seu próprio crescimento e inibe o crescimento de outros folículos. Fatores inerentes ao tamanho folicular, concentração de E2 e P4, podem ser importantes para estabelecer a forma como o folículo se faz dominante durante a fase de seleção (SUNDERLAND *et al.*, 1994).

Fig 3- Esquema da aparição de uma onda folicular e sua relação hormonal com FSH, LH e Progesterona.

XU *et al.* (1995b) sugeriram que a seleção do folículo dominante pode ser um processo passivo, no qual o primeiro folículo que adquire receptores para LH em suas células da granulosa é o selecionado para converter-se em folículo dominante. A aquisição de receptores para LH por parte das células da granulosa faz com que estes folículos respondam ao LH, além do FSH, cuja concentração no sangue encontra-se diminuída a níveis basais no momento da seleção do folículo dominante (ADAMS *et al.*, 1992). Dominância é o mecanismo que um folículo ovulatório utiliza para escapar do processo de atresia e inibir o recrutamento de um novo grupo de folículos. Foi demonstrado que a expressão de receptores para LH nas células da granulosa está associada com a dominância (XU *et al.*, 1995a; YUAN *et al.*, 1998).

2.2.2- Dinâmica Folicular Ovariana Durante o Ciclo Estral nos Bovinos:

O desenvolvimento de folículos antrais se considera originalmente como um processo de contínuas trocas sem um padrão definido de crescimento folicular, regressão e atresia (MARION *et al.*, 1968). Estudos clássicos realizados por RAJAKOSKI (1960) e os realizados por MATTON *et al.* (1981), indicaram que, na população de folículos antrais ocorrem ao menos dois períodos de troca durante o ciclo estral da vaca. Entretanto, realizando revisão diária dos ovários por ultra-som, confirmou-se que uma onda folicular ovulatória ou, mais freqüentemente, duas ondas, podem ocorrer durante a fase luteal do ciclo estral, antes que haja o desenvolvimento do folículo dominante depois da regressão luteal (PIERSON & GINTHER, 1984; FORTUNE *et al.*, 1988; SAVIO *et al.*, 1988; SIROIS & FORTUNE, 1988; GINTHER *et al.*, 1989; LUCY *et al.*, 1992; SUNDERLAND *et al.*, 1994; ROCHE, 1996).

Nos bovinos, os folículos se desenvolvem no início e na metade da fase luteal do ciclo estral (RAJAKOSKI, 1960; IRELAND, 1987). Isto se revela por um aumento das concentrações de E2 no sangue vários dias depois da ovulação e na metade da fase luteal. Cada onda folicular se caracteriza pela emergência simultânea de um grupo de 5 a 7 folículos (> 5mm de diâmetro) do grupo de folículos pequenos presentes nos ovários. Um destes folículos emerge rapidamente e se faz maior que os outros folículos e se torna o folículo dominante (FORTUNE 1993), enquanto que os outros folículos sofrem regressão.

O folículo dominante alcança um diâmetro máximo de 10 a 15 mm e permanece dominante por um período de 5 a 7 dias. O folículo dominante em regressão é substituído por um novo folículo dominante que cresceu da onda seguinte de crescimento folicular. Se a regressão luteal ocorre durante a fase de crescimento ou no início do período de dominância, então o folículo dominante, livre do ambiente hormonal inibidor imposto pela P4 secretada pelo corpo lúteo, continua até alcançar tamanho pré – ovulatório e estimular os eventos que culminam com a ovulação (WEBB *et al.*, 1992).

A dinâmica folicular pode ser definida como um processo contínuo de crescimento e regressão de folículos antrais e que contribui para o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório (LUCY *et al.*, 1992). IRELAND (1987) sugeriu que a regressão dos folículos dominantes durante o ciclo estral é regulada pela diferença na resposta dos folículos, selecionados ou não, dentro de uma mesma onda folicular, às alterações nos padrões de secreção das gonadotrofinas, as quais, por sua vez, resultam em uma produção diferenciada de fatores intrafoliculares, inibidores ou estimulantes, que controlam a seleção, dominância e atresia. A análise dos padrões de desenvolvimento de folículos grandes nos mamíferos mostra que estes não se desenvolvem ao acaso, mas sim durante fases reprodutivas particulares ou durante momentos específicos do ciclo reprodutivo (FORTUNE, 1994).

O padrão de desenvolvimento folicular está associado com trocas foliculares na expressão do ARNm que codifica os receptores das gonadotrofinas (XU *et al.*, 1995a) e enzimas esteroidogênicas (XU *et al.*, 1995b), que permitem que os folículos selecionados, quando se expõem ao ambiente hormonal requerido, se desenvolvam e ovulem em resposta às ondas pré-ovulatórias das gonadotrofinas. Sinais endócrinos, tais como gonadotrofinas, inibina e esteróides, assim como fatores de crescimento produzidos localmente, tais como IGF-I, TGF α , TGF β , EGF e outros hormônios peptídicos, tais como activina e folistatina, são responsáveis pelo controle e coordenação destes processos (ARMSTRONG & WEBB, 1997).

No início do ciclo estral, uma onda de folículos é recrutada do pool de folículos antrais menores (2 a 4 mm). O recrutamento não é um fenômeno isolado ao acaso. Aparentemente, os folículos a serem recrutados parecem ter recebido anteriormente um sinal que lhes permite crescer e desenvolver, ao invés de sofrer regressão. O mecanismo que controla o recrutamento destes pequenos folículos e determina quais folículos são recrutados não é conhecido. O sinal que estimula o recrutamento parece ser uma ligeira elevação de FSH no plasma (FORTUNE, 1994). Assim, XU *et al.* (1995a) sugeriram que as trocas na expressão da ARNm para receptores FSH e LH podem ser importantes para o recrutamento de uma onda folicular, seleção e atresia do folículo dominante em bovinos.

Todavia, o nível de ARNm para receptores de FSH em folículos normais, não se relaciona com o tamanho folicular, nem com as trocas em nível de ARNm para o receptor de FSH durante a primeira onda folicular. ADAMS *et al.* (1992) reportaram que de 2 a 4 dias antes de uma onda de desenvolvimento folicular se iniciar, ocorre um incremento de FSH, sugerindo que este incremento inicia a fase de emergência do folículo dominante. SUNDERLAND *et al.* (1994), usando ultra-som e a relação E2: P4 em líquido folicular, reportaram que durante os dias 1 e

3 do ciclo estral, ocorre a seleção do folículo dominante durante a primeira onda de desenvolvimento folicular.

O final da fase de seleção se define como o momento em que um folículo estroginicamente ativo promove seu próprio crescimento e inibe o crescimento de outros folículos (SUNDERLAND *et al.*, 1994). ADAMS *et al.* (1993) mostraram que a diminuição nas concentrações circulantes de FSH é um componente importante no mecanismo de seleção, sendo este mecanismo ainda desconhecido. XU *et al.* (1995a; 1995b) sugerem que a seleção do folículo dominante pode ser um processo passivo no qual o primeiro folículo a adquirir receptores para LH nas células da granulosa é selecionado para converter-se em folículo dominante, uma vez que passam a responder ao LH, além do FSH.

Aproximadamente no dia 5 do ciclo estral, há geralmente um folículo em crescimento, sendo este dominante, permanecendo nesta condição até meados do dia 9 (DRIANCURT *et al.*, 1991), período no qual não se observam folículos maiores de 5 mm nos ovários. Portanto, um folículo dominante se define como sendo um folículo ovariano com diâmetro superior a 10mm, que é recrutado durante uma onda folicular e regula o crescimento de outros folículos, causando regressão destes e podendo também suprimir o início de uma nova onda folicular (LUCY *et al.*, 1992; FORTUNE, 1993).

Várias hipóteses foram postuladas para descrever a dominância folicular. Uma delas sustenta que o folículo dominante secreta um produto que impede, diretamente, o crescimento e o desenvolvimento de folículos subordinados, sendo tal fator de natureza endócrina. A segunda hipótese sugere que o folículo dominante poderia causar a regressão de folículos subordinados indiretamente, via mecanismos de retroalimentação negativa, nos quais E_2 e inibina causariam uma diminuição dos níveis de FSH, não sendo suficientes para manter o crescimento de folículos subordinados (FORTUNE,

1994). Uma terceira hipótese que explica a dominância do ponto de vista intra-ovariano, sugere que a produção de fatores locais no ovário, tais como o IGF, TGF, FGF e EGF, podem inibir diretamente o desenvolvimento de folículos subordinados (CAMPBELL *et al.*, 1995; ARMSTRONG & WEBB, 1997).

SUNDERLAND *et al.*(1994) indicaram que, entre os dias 1 e 3 do ciclo estral, ocorre a fase de seleção do folículo dominante, no início do diestro, enquanto nos dias 10 e 12 ocorre a fase de seleção para o próximo folículo dominante, sendo o período em que o primeiro folículo dominante cessa suas funções e entra em atresia, se tornando estroginicamente inativo. Em ciclos com duas ondas foliculares, a maturação do folículo dominante coincide com a regressão espontânea do corpo lúteo e o folículo ovula logo após a luteólise. LUCY *et al.*(1992) reportaram que o folículo dominante da segunda onda pode tornar-se atrésico, sendo desencadeada uma terceira onda de crescimento folicular, que se transforma em folículo pré – ovulatório.

As ondas foliculares durante o ciclo estral ocorrem aproximadamente a intervalos de 7 dias. Nos ciclos estrais de 3 ondas foliculares, a primeira, a segunda e a terceira onda se iniciam nos dias 2, 9, e 16 respectivamente. Nos ciclos estrais de 2 ondas foliculares a segunda onda de crescimento começa no dia 11. As ondas de desenvolvimento folicular ocorrem regularmente durante o ciclo estral e prenhez. Durante o ciclo estral, a onda pré-ovulatória de gonadotrofinas altera o padrão regular de ondas através da ovulação do folículo que é funcionalmente dominante no momento do estro (SIROIS & FORTUNE, 1988; FORTUNE *et al.* 1991).

Fig 5- Padrão de três ondas foliculares durante o ciclo estral e concentrações de P₄.

Nos folículos antrais bovinos, o sinal mais característico de atresia é a morte das células da granulosa levando a destruição quase

total da camada de células da granulosa que reveste a parede interna do folículo (RAJAKOSKI, 1960). A atresia do folículo dominante não ovulatório se caracteriza por uma diminuição significativa no número de células da granulosa, diminuição no número de receptores para LH e FSH (IRELAND & ROCHE 1983a; 1983b) e diminuição na capacidade para produzir estrógeno entre os dias 7 e 13 do ciclo estral (BADINGA *et al.* 1992). Os fatores envolvidos na regulação da atresia folicular não estão claros, mas tem-se demonstrado que a diminuição dos pulsos de LH acelera o processo de atresia do folículo dominante (SIROIS & FORTUNE 1990).

2.2.3- Controle Hormonal da Dinâmica Folicular Ovariana:

Durante cada ciclo estral, os ovários sintetizam e secretam E_2 e P_4 , os quais coordenam a função do sistema reprodutivo feminino. Cada ciclo estral compreende uma fase folicular e outra luteal. A fase folicular se caracteriza pelo desenvolvimento de um folículo pré-ovulatório que secreta E_2 , enquanto que a fase luteal se caracteriza pela secreção de P_4 pelo corpo lúteo, o qual se forma depois da ovulação do folículo pré-ovulatório. Ao final desta fase, o corpo lúteo involui por ação da $PGF2\alpha$, ocorrendo o desenvolvimento final de um próximo folículo pré-ovulatório (CHENAULT *et al.*, 1976).

O folículo pré-ovulatório em desenvolvimento produz um nível crítico de E_2 que estimula o hipotálamo para aumentar a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH. Foi sugerido que isso ocorre baseado em um aumento na frequência e amplitude dos pulsos de LH. O incremento dos pulsos de LH amplifica a secreção de E_2 , completa o desenvolvimento folicular, induz o comportamento estral e estimula onda pré-ovulatória de LH. A ovulação ocorre aproximadamente 30 horas depois da onda pré-ovulatória de LH (CHENAULT *et al.*, 1976; ROBINSON & SHELTON, 1991).

Fig 6- Esquema dos padrões hormonais durante o ciclo estral.

2.2.3.1- Hormônios Esteróides:

Os hormônios esteróides, tais como progestágenos, andrógenos e estrógenos, são produzidos pelo folículo ovariano durante seu desenvolvimento. Cada onda de desenvolvimento de um folículo dominante passa por fases de seleção, dominância e atresia ou ovulação. Durante a fase de seleção a produção de E_2 é similar em cada ovário. Ao final desta fase, um folículo torna-se maior que os outros, sendo responsável pela maior parte de E_2 produzido e contribui para um aumento transitório na sua concentração no sangue. Se a regressão luteal ocorre em coincidência com a fase de dominância folicular, ocorre ovulação deste folículo. Caso a involução luteal não ocorra durante a fase de dominância, o folículo dominante sofre atresia e começa uma nova fase de seleção (IRELAND & ROCHE, 1987).

Em vacas, a onda pré-ovulatória de LH é induzida por aumento nas concentrações de E_2 depois da involução do CL (CHENAULT *et al.*, 1975). O E_2 inicia a onda pré-ovulatória de LH atuando sobre o hipotálamo para aumentar a secreção de GnRH. Uma onda pré-ovulatória de FSH ocorre concomitante com a onda de LH. (WALTERS & SCHALLENBERGER, 1984). As concentrações plasmáticas de E_2 são altas antes da onda de LH e baixam durante esta onda. As concentrações de andrógenos e progestágenos, no fluido folicular, são muito menores que as de E_2 antes da onda de LH. Após esta onda, os andrógenos declinam no fluido folicular enquanto que a P_4 aumenta. Os folículos atrésicos diferem de folículos não atrésicos por apresentarem menores concentrações de E_2 (FORTUNE & HANSEL, 1985).

A involução do primeiro folículo dominante é devida a um efeito de retroalimentação negativa da P_4 , produzida pelo corpo lúteo, sobre a secreção de LH (SAVIO *et al.*, 1993a). Na ausência de um CL normal e em um ambiente com baixa concentração de progestágenos, o primeiro folículo dominante continua crescendo e suprime o

crescimento de outros folículos por mais de vinte dias. A presença de altos níveis de P_4 , durante a fase luteal, assegura que o período de dominância seja limitado, devido à indução de uma baixa frequência de pulsos de LH, levando à atresia. Por outro lado à manutenção da concentração de P_4 entre 1 e 2 ng/ml prolonga a dominância (SAVIO *et al.*, 1993b). Nos casos onde o ciclo estral é prolongado por manutenção de uma concentração normal de P_4 , artificialmente ou naturalmente como durante a gestação, têm lugar ondas foliculares contínuas. Entretanto, a ocorrência de ondas foliculares durante a prenhez é prevalente no ovário contralateral ao corno uterino gestante (GINTHER *et al.*, 1989).

2.2.3.2- Hormônios Gonadotróficos:

A regulação da produção de esteróides pelas células da teca e da granulosa depende das gonadotrofinas. As células tecais têm receptores para LH, mas não para FSH. A união do LH às células tecais aumenta à medida que o folículo pré-ovulatório se desenvolve (IRELAND & ROCHE, 1983a).

O FSH é um hormônio chave para a emergência de ondas foliculares e sua diminuição está associada com a seleção de um folículo dominante que se torna dependente de LH para seu crescimento (ROCHE, 1996). TURZILLO E FORTUNE (1990) reportaram que a onda secundária de FSH (24 h após a onda pré-ovulatória de FSH) é importante para o início do desenvolvimento folicular no ciclo estral bovino. As concentrações circulantes de FSH diminuem uma vez iniciada a seleção, indicando a presença de um folículo estrogênioativo. O folículo dominante continua crescendo, demonstrando que grandes quantidades de FSH não são necessárias para manter a dominância folicular (SUNDERLAND *et al.*, 1994).

Condições fisiológicas apontam que o LH exerce um efeito regulatório sobre o crescimento e dominância de folículos dominantes

não ovulatórios e folículos ovulatórios em bovinos. Tais situações incluem o início do período pós-parto em vacas de leite, no qual ocorre desenvolvimento de folículos menores ou iguais a 8 mm (SAVIO *et al.*, 1990a; 1990b). As concentrações de LH nestas situações estão em níveis basais. O crescimento e ovulação de folículos em novilhas antes da puberdade podem ser conseguidos com o uso de injeções repetidas de LH (TORTONESE *et al.*, 1990).

O hormônio luteotrófico (LTH), idêntico à prolactina, possui uma ação condicionante da atividade funcional do corpo lúteo além de possuir ação sobre a glândula mamária (DERIVAUX, 1985).

Há também gonadotrofinas de origem extrahipofisárias que são o PMSG e o HCG. O primeiro é secretado nas criptas do endométrio de éguas prenhes, sendo encontrada no sangue entre o 40^o e 150^o dias, não sendo excretadas pela urina. O HCG é encontrado na urina de mulheres grávidas e de certos primatas no início da prenhez, tendo origem coriônica ao nível do sincício trofoblástico. Estas gonadotrofinas não apresentam ação estritamente substituível à das gonadotrofinas hipofisárias, embora para se conseguir um efeito FSH se possa administrar o PMSG. Do mesmo modo para se obter um efeito LH, pode-se recorrer ao HCG (DERIVAUX, 1985).

2.2.3.3- Outros Fatores Envolvidos:

A dinâmica folicular ovariana está controlada não só pela interação de hormônios endócrinos (hormônios esteróides e gonadotróficos), mas também por peptídeos ovarianos e por fatores de crescimento (MONGET & MONNIAUX, 1995). A resposta as gonadotrofinas dos dois tipos celulares ovarianos mais importantes, é regulada pela produção de peptídeos e fatores de crescimento, que podem interagir diretamente com o mesmo tipo celular na qual são produzidos ou com outro tipo celular, podendo atenuar ou estimular a resposta celular as gonadotrofinas (ARMISTRONG & WEBB, 1997).

Inibina, activina, IGF-I, IGF-II, IGFbp, TGF α , TGF β , EGF e outros fatores têm efeitos diretos e indiretos sobre as células tecais e da granulosa que podem moldar o desenvolvimento folicular e a esteroidogênese. A inibina tem efeito incrementando a síntese de andrógenos nas células tecais, induzida por LH (HILLIER *et al.*, 1991). A produção de inibina é estimulada por esteróides e por FSH (WRATHALL & KNIGHT, 1993). Isto é um indicativo de retroalimentação local dentro do folículo, envolvida em uma troca seqüencial de inibina, activina e suas proteínas transportadoras, que se desenvolvem no mesmo ambiente de gonadotrofinas e fatores de crescimento (ROCHE, 1996).

2.2.4- Alterações Fisiológicas no Pós-Parto:

Antes da parição, a concentração de FSH no sangue é baixa, provavelmente devido à elevada quantidade de estradiol produzido pela placenta durante as últimas semanas de prenhez, fazendo com que as ondas foliculares que ocorreram durante todo o período gestacional cessem durante os últimos 21 dias. Após a parição, há uma queda do nível de progesterona e estradiol no sangue, visto que não há mais produção de esteróides pela placenta. Até dois dias após o parto, há um aumento significativo da concentração de FSH sangüíneo, que continua a aumentar até o 6^o dia pós-parto. Esse aumento provoca o surgimento da primeira onda folicular, durante a primeira semana após o parto (GINTHER *et al.*, 1998).

Em geral, a primeira ovulação é seguida de uma fase luteal que apresenta curta duração em virtude da secreção precoce de PGF2 α pelo útero. Essa secreção se inicia logo que o útero é exposto a progesterona e ocorre regressão do corpo lúteo, aproximadamente no dia sete do ciclo estral. Portanto, os ciclos estrais curtos se caracterizam por um intervalo de cerca de 9 a 11 dias entre as ovulações (WILTBANK, 2000).

Em alguns casos, a vaca pode apresentar várias ondas foliculares antes da primeira ovulação. Geralmente, o crescimento de um folículo após o ponto de desvio (~ 10 mm) tem como resultado concentrações de estradiol superiores a 2-5 pg/ml no sangue. A continuação do crescimento do folículo até 12 mm está relacionada com concentrações de estradiol > 5 pg/ml. O tamanho do primeiro folículo em vacas leiteiras é de aproximadamente 14,5 mm. Portanto, folículos que crescem até 14 – 15 mm de tamanho produzem concentrações de estradiol suficientes (>10 pg/ml) para causar uma onda de LH e, conseqüentemente, a ovulação (WILTBANK, 2000).

Fig 7- Padrão de ondas foliculares e concentração de P₄ no pós – parto.

Embora se atinjam concentrações normais de estradiol no estro, essa primeira ovulação geralmente não é seguida de estro comportamental, possivelmente devido à ausência de estímulo do Sistema Nervoso Central para a produção de progesterona. As vacas em que esses folículos grandes continuam crescendo, mas não chegam a ovular, apresentam o que se denomina de anovulação de folículos grandes. Esses folículos podem crescer bastante (> 25 mm), sendo então classificados como cistos foliculares, ou atingir um tamanho geralmente não classificado como cístico (15 – 24 mm), mas que apresentam constantes folículos anovulatórios, que pode ser encontrado em animais com grave balanço energético negativo. Podem também ocasionar crescimento apenas de folículos pequenos, o que se deve à ausência de pulsos de LH e baixa concentração de estradiol, podendo permanecer anovulatórios até que se atinjam níveis hormonais adequados. (WILTBANK, 2000).

2.3- Anestro:

O anestro é a ausência de ciclicidade, condição normal em fêmeas na fase pré-púbere, prenhes ou no pós-parto. O anestro é considerado anormal quando passa do período da puberdade ou se estende além do período normal do pós-parto (HOPKINS, 1989).

Muitas vezes, o aumento na capacidade de produzir leite dos animais, obtido através de aprimoramento nas técnicas de manejo e seleção, não tem sido acompanhado por melhorias significativas dos índices reprodutivos e esta premissa é tão mais evidente quanto maiores as médias de produção atingidas pelos rebanhos leiteiros. De fato, parece haver uma relação antagônica entre produção de leite e fertilidade (BUTLER AND SMITH, 1989; KINSEL & ETHERINGTON, 1998).

A lactação possui uma ação até certo ponto impeditiva da atividade ovárica, mediante a secreção de prolactina. A interrupção da lactação promove a secreção de um fator, ao nível de hipotálamo, que impede a secreção de prolactina (PIF), permitindo assim a reativação das funções ováricas. Desta forma, o desmame definitivo ou temporário podem influir no aumento da fertilidade da fêmea no pós-parto, antecipando as manifestações de estro acompanhadas de ovulação (MIES FILHO, 1987). Entretanto, a evolução da produção de leite geralmente não é acompanhada por aumentos no consumo de matéria seca, resultando em balanço energético negativo, redução da atividade ovariana e, conseqüentemente, das taxas de concepção (BUTLER AND SMITH, 1989; CANFIELD *et al.*, 1991).

Em virtude da necessidade de obter-se um intervalo entre partos de 12 a 13 meses, as vacas leiteiras deverão conceber entre 85 e 115 dias após o parto, sendo que a não manifestação de cios neste período caracteriza o anestro do pós-parto. A etiologia do anestro está também ligada a uma carência em oligo-elementos ou vitaminas, parasitoses, metrites de terceiro grau e/ou deficiências nutricionais (TAINTURIER, 1999).

A lactação comumente exacerba os problemas causados por dietas de baixo valor nutricional, influenciando diretamente no prolongamento do anestro pós-parto. Pesquisas mostram que animais mastectomizados no pós-parto retornam à atividade cíclica dentro de poucos dias (HOPPINKS, 1989). Portanto, variáveis como observação do cio, nutrição inadequada e fatores ligados à sanidade do rebanho são decisivos para a obtenção de índices reprodutivos aceitáveis (MONTEZUMA JR, 2001). Segundo STEVENS & HOPPINKS (1989), é necessário entender o mecanismo do eixo hipotálamo-hipófise-gônada para avaliar as causas de anestro antes de iniciar uma terapia para promover o estro.

2.4- Terapia Hormonal:

Foi relatado que quase metade dos períodos estrais em vacas leiteiras cíclicas normais podem não ser detectados (PANKOWSKI *et al.*, 1995) e em geral, estudos têm relacionado à má detecção de estro a falhas na sua observação, constituindo uma das causas mais comuns da baixa fertilidade em rebanhos que utilizam IA (FRAGA *et al.*, 2001). Portanto, a deficiência de observação torna a eficiência reprodutiva de gado leiteiro um grande desafio. Entretanto, pesquisas recentes demonstraram que protocolos utilizando $PGF_{2\alpha}$ e/ou GnRH são capazes de sincronizar o estro e a ovulação e poderiam, potencialmente, melhorar a taxa de gestação de vacas leiteiras lactantes (PURSLEY *et al.* 1995; PURSLEY *et al.*, 1997).

LARSON & BALL (1992) afirmaram que a $PGF_{2\alpha}$ e seus análogos sintéticos, dentre os agentes luteolíticos, são os mais eficientes para o controle do ciclo estral em vacas leiteiras, mas o estágio do ciclo estral afeta a resposta ao tratamento. Desse modo, a presença de um corpo lúteo funcional susceptível a luteólise determina o momento da primeira injeção de $PGF_{2\alpha}$, visando maximizar a

resposta ao tratamento. CAVESTANY & FOOTE (1985) concluíram que o uso do GnRH, aplicado a partir de 15 dias após a parição, ajudava a involução do útero e promovia o retorno dos ciclos estrais mais precocemente.

O protocolo “*Ovsynch*” (PURSLEY *et al.*, 1995) consiste em uma aplicação intramuscular de 100µg de GnRH, independentemente do dia do ciclo estral em que as vacas se encontram, causando ovulação do folículo dominante presente e iniciando ou coincidindo com o início de uma nova onda de crescimento folicular, sincronizando o desenvolvimento do próximo folículo dominante. Uma injeção intramuscular de PGF₂α (35mg) é administrada sete dias após a primeira aplicação de GnRH, causando a regressão do corpo lúteo. Após 48 horas é realizada uma segunda aplicação de GnRH em dose semelhante à primeira. Com isso, a ovulação é sincronizada em um período de 8h, 24 a 32 h após a segunda aplicação de GnRH. Isto ocorre porque os folículos pré-ovulatórios estão sincronizados no mesmo estágio de desenvolvimento e respondem ao LH liberado em resposta à segunda aplicação de 100µg de GnRH.

Segundo PURSLEY *et al.* (1997), este protocolo permite sincronização da ovulação o que viabilizaria a IA sem a detecção de estro. Além disso, permite uma diminuição do período voluntário de anestro pós-parto e a concentração de todas as IAs em um único dia da semana, facilitando o manejo reprodutivo do rebanho, bem como diminuindo os custos. Os benefícios deste programa poderiam ser aumentados com o uso do diagnóstico precoce de gestação. Contudo, este protocolo não é tão efetivo em novilhas quanto em vacas.

Tratamentos com progesterona ou progestágenos são apontados como indutores da retomada da ciclicidade no pós-parto, além de provocar um “priming” no útero, evitando a ocorrência de ciclos curtos (MIHM, 1999). A utilização de protocolos de sincronização do ciclo estral pela associação do norgestomet (subcutâneo + injetável)

e estradiol (injetável) possibilita o emprego da inseminação artificial em fêmeas sem a necessidade de observação do estro (MURTA *et al*, 2001). O CRESTAR[®] é uma eficiente ferramenta de manejo e é constituído por um implante de silicone contendo 3 mg de norgestomet (progestágeno), Crestar injetável, com 3 mg de norgestomet associado ao valerato de estradiol, tendo seu uso associado ao eCG. O protocolo do CRESTAR[®] consiste na aplicação de uma injeção de Crestar injetável e do implante auricular no dia zero. No dia nove, procede-se a retirada dos implantes e aplicação de 500 U.I. de eCG e inseminação artificial 56 horas após.

Quimicamente, o norgestomet (17 α -acetoxi-11 β -metil-19-norpeg-4-ene-20, dione) resulta de uma modificação do 19-norprogesterone e tem demonstrado ser uma progestina com alta atividade biológica (KESLER & FAVERO, 1995). O valerato de estradiol é um éster do 17 β -estradiol, modificado e de longa ação. A combinação de uma progestina (norgestomet) com um estradiol de longa duração (valerato de estradiol), inibem o crescimento da onda folicular e também promove a luteólise (KESLER & FAVERO, 1996). O estradiol apresenta efeito luteolítico e antiluteotrófico (TATCHER *et al*, 1986). Na presença de progestágenos, o 17- β estradiol induz a atresia do folículo persistente (RAJAMAHENDRAN & MANIKKAN, 1994) e do folículo dominante presente em qualquer fase do ciclo estral, induzindo a emergência de uma nova onda folicular (BO *et al.*, 1995).

A porção injetável de norgestomet se faz necessária para conferir níveis mais altos de progesterona sangüínea no 1^o dia do tratamento, uma vez que tais níveis não são conseguidos apenas com o implante (MURTA *et al.*, 2001). A administração de eCG no momento da retirada dos dispositivos serve para sincronizar a ovulação e possibilitar a inseminação artificial em tempo fixo (SINGH *et al.*, 1998).

XU & BURTON (2000) observaram que o uso de implantes de progesterona, bem como o momento de sua retirada, influenciam significativamente as taxas de sincronização do estro, concepção e prenhez, quando utilizados em conjunto com GnRH e PGF₂α.

3- JUSTIFICATIVA:

A pouca utilização de protocolos hormonais no estado do Ceará, não permite conhecimento suficiente sobre seus resultados em animais mestiços (3/8 Holandês X 5/8 Gir) e criados nas condições ambientais do Semi-Árido Nordestino. Portanto, a hormonioterapia controlada quando bem aplicada, poderá contribuir para o aumento da eficiência reprodutiva dos rebanhos leiteiros, podendo ser empregada com sucesso na redução do anestro pós-parto, tendo como consequência direta a redução do período parto-concepção (período de serviço).

4- OBJETIVOS:

4.1- Objetivo Geral:

1) Comparar a eficiência de dois protocolos de indução e sincronização do estro e da ovulação (CRESTAR e OVSYNCH) em vacas leiteiras mestiças no anestro pós-parto e criadas no semi-árido do Nordeste brasileiro;

4.2- Objetivos Específicos:

1) Avaliar o número de fêmeas em estro e a qualidade do estro apresentado em cada protocolo;

2) Avaliar aos 60 dias após 1^a e 2^a inseminações, a taxa de prenhez nos dois protocolos comparados;

3) Avaliar a viabilidade econômica de ambos os protocolos nas condições de manejo de vacas leiteiras no semi-árido do Nordeste brasileiro.

5- MATERIAIS E MÉTODOS:

5.1- LOCALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO:

O experimento foi executado na Fazenda Recife (CIALNE – Companhia de Alimentos do Nordeste Ltda), localizada no Município de Umirim-CE, situado a 100 km de Fortaleza, com altitude de 66m e coordenadas geográficas de 3,67° de latitude sul e 39,35° de longitude oeste (IBGE, 1999), sendo os tratamentos aplicados no mês de novembro, caracterizado por período seco nesta região. A classificação climática da região é “Tropical semi-árido” (FUNCEME, 2001).

5.2- ANIMAIS EXPERIMENTAIS:

Foram utilizadas 56 vacas mestiças (3/8 Holandês x 5/8 Gir), com, pelo menos, 50 dias em aberto no pós – parto e que tiveram, no máximo, três partos; o escore corporal médio foi de $3,5 \pm 0,5$ (WILDMAN, 1982); após realizado exame ginecológico (Anexo 11) através de palpação retal, foram selecionados animais com fertilidade comprovada e com ausência de histórico de partos distócicos, retenção placentária ou de infecção uterina severa ou moderada.

Os lotes foram mantidos em sistema de confinamento durante o período experimental, com uma dieta composta de canarana (*Echinochloa piramydalis*) picada à vontade, cama de aviário (peneirada) e concentrado à base de milho, soja, farelo de trigo, calcário, fosfato bicálcico, óleo vegetal, refinazil, premix mineral/vitamínico e sal comum. Animais em lactação consumiram, durante o experimento, 3 kg de cama de aviário e 3 kg de concentrado/dia (proteína bruta = 22%) e os animais secos, apenas 4 kg de cama aviária/dia. Os animais foram ordenhados mecanicamente duas vezes ao dia (às 3:00 e 15:00 h). Os

currais de ambos os lotes possuíam áreas de sombreamento natural e artificial, com livre acesso à água e mistura mineral.

5.3- DELINEAMENTO EXPERIMENTAL:

Os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em dois tratamentos. O primeiro grupo (n=26) foi submetido a um protocolo hormonal (*OVSYNCH*) à base de PGF₂ α e GnRH e o segundo (n=24), submetido a outro protocolo hormonal (*CRESTAR*[®]) à base de norgestomet, estradiol e eCG, onde todos os animais ficaram monitorados durante o período fim do tratamento/início do estro (Anexo 12) conforme descrição a seguir:

► PROTOCOLO *OVSYNCH*:

DIA ZERO: 2,5 ml de GnRH (Conceptal - acetato de buserelina 0,0042mg/ml), por via intramuscular;

DIA SETE: 2,0 ml de PGF₂ α (Preloban¹ - D-cloprostenol sódico 7,5 mg/100ml), por via intramuscular;

DIA NOVE: 2,5 ml de GnRH (segunda dose);

DIA DEZ: Observação do estro e inseminações 12 horas após o seu início, ou seja, 14 horas após o fim do tratamento.

Fig 8: Esquema do protocolo *OVSYNCH*.

► PROTOCOLO *CRESTAR*:

DIA ZERO: As vacas deste grupo, receberam a aplicação de um implante auricular, contendo 3 mg de norgestomet (Implante Auricular

Conceptal[®] ; Preloban[®] - Akzo Nobel, Intervet, Brasil.
Crestar[®] - Akzo Nobel, Intervet, Brasil.

CRESTAR[®]), seguida de aplicação intramuscular de 6 mg de norgestomet e 10 mg de valerato de estradiol (CRESTAR[®] Injetável);

DIA NOVE: realização da retirada dos implantes auriculares e aplicação de 500 UI de eCG (Novormon);

DIA ONZE: inseminações com a observação e caracterização da qualidade do estro, sendo essa realizada 12 horas após o início do estro, ou seja, 40 horas após o fim do tratamento.

Fig 9: Esquema do protocolo CRESTAR.

Ficou convencionado que a qualidade do estro seria classificada de acordo com a presença dos sintomas característicos desta fase do ciclo estral em: cio forte ou fraco, considerando-se cio forte quando houve a presença de todos os sintomas do estro, como micção e mugidos freqüentes, monta e deixa-se montar, presença de grande quantidade de muco cristalino (HOPKINS, 1989). Naqueles classificados como cio fraco, esses sintomas apareceram em menor intensidade e com muco em pouca quantidade.

A aplicação e a retirada do implante auricular seguiu-se instruções conforme figura 11.

Fig 11: Como aplicar o implante de Crestar.

As inseminações artificiais foram feitas por um inseminador, sendo utilizado sêmen de um único reprodutor (H 8557 – ABS Pecplan do Brasil[®]) e o diagnóstico de gestação realizado por palpação retal, 60 dias após a primeira e segunda inseminações (Anexo 13).

5.4- ANÁLISE ESTATÍSTICA:

Para as análises estatísticas não se levaram em consideração as variáveis ordem de parto e lactação, pois a maioria das fêmeas eram primíparas e secas, sendo distribuídas eqüitativamente nos dois tratamentos (*OVSYNCH* E *CRESTAR*). Avaliou-se somente a eficiência dos tratamentos com relação à indução e qualidade do estro, bem como o efeito dos mesmos sobre a taxa de prenhez.

A taxa de prenhez (fêmeas positivas e negativas ao diagnóstico) e os percentuais de fêmeas com cio forte e fraco, foram avaliados pelo teste não paramétrico do χ^2 (Qui-Quadrado), enquanto que o intervalo fim do tratamento/início do estro foi avaliado pelo teste t de Student, utilizando o programa estatístico SYSTAT, versão 7.0- USA.

5.5- ANÁLISE ECONÔMICA:

A análise econômica é necessária para se conhecer o custo de uma prenhez com a utilização dos protocolos hormonais *CRESTAR* e *OVSYNCH*, seguidos de IA, conhecendo-se, desse modo, a viabilidade econômica do emprego desta tecnologia.

Para tal foram levados em conta os custos dos tratamentos (C_t), custo da dose de sêmen (C_{ds}), o número de fêmeas tratadas em cada protocolo (N), o número de IA's (N_{ia}) e o número de fêmeas prenhes ao diagnóstico de gestação (N_p), onde o cálculo procedeu-se conforme a seguinte fórmula:

$$[(C_t \times N) + (C_{ds} \times N_{ia})] / N_p$$

Para ser avaliado o benefício dos tratamentos, foi levado em consideração o valor do litro de leite, o lucro estimado e a produtividade do rebanho.

6- RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Os dados apresentados na tabela 1 mostram que 100% das fêmeas apresentaram estro em ambos os tratamentos (CRESTAR e *OVSYNCH*). Considerando a intensidade do estro apresentado (cio forte ou cio fraco), o tratamento CRESTAR apresentou percentual mais significativo ($P < 0,05$) de fêmeas com estro forte (95,8%) em relação ao *OVSYNCH*, com 76,9%.

Por outro lado, o intervalo médio fim do tratamento início do estro foi significativamente mais curto ($P < 0,05$) no tratamento *OVSYNCH* (3,5h) em relação ao CRESTAR (28h). Isto ocorre porque, neste caso, a aplicação da primeira dose de GnRH induz a ovulação do folículo dominante presente e inicia ou coincide com o início de uma nova onda de crescimento folicular, sincronizando o desenvolvimento do próximo folículo dominante. A injeção intramuscular de $PGF_2\alpha$ é administrada sete dias após, causando a regressão do corpo lúteo. A ovulação é sincronizada porque os folículos pré-ovulatórios estão sincronizados no mesmo estágio de desenvolvimento e respondem ao LH liberado após a segunda aplicação de GnRH, no tratamento *OVSYNCH*.

No tratamento CRESTAR, a combinação de norgestomet com o valerato de estradiol, inibe o desenvolvimento da onda folicular e também promove a luteólise (KESLER & FAVERO, 1996). O estradiol apresenta efeito luteolítico e antiluteotrófico (TATCHER, *et al*, 1986) e, na presença de progestágenos, o $17-\beta$ estradiol induz a atresia do folículo persistente (RAJAMAHENDRAN & MANIKKAN, 1994) e do folículo dominante presente em qualquer fase do ciclo estral, induzindo a emergência de uma nova onda folicular (BO *et al.*, 1995), portanto, apresenta uma ação mais demorada.

Tabela 1: Qualidade do estro de vacas leiteiras mestiças, em anestro pós-parto, submetidas aos tratamentos hormonais *CRESTAR* e *OVSYNCH*.

		% Fêmeas	% Fêmeas	% Fêmeas	Intervalo
				Tratamentos c/ cio forte	n em estro c/ cio fraco Fim Tratamento/ Início Estro (Horas)
CRESTAR	24	100	95,8 ^a (23/24)	4,2 ^a (1/24)	28,0 ± 1,0 ^b
OVSYNCH	26	100	76,9 ^b (20/26)	23,1 ^b (6/26)	3,5 ± 3,0 ^a

^{a,b} - Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05);

A avaliação das taxas de prenhez aos 60 dias da gestação na 1^a e 2^a Inseminações artificiais (IA) mostram que o tratamento *CRESTAR* apresentou um maior percentual de fêmea prenhes na primeira IA com 62% contra 34,6% do tratamento *OVSYNCH*. Contudo, na segunda IA ambos os tratamentos apresentaram percentuais equivalentes de fêmeas prenhes com 55% no *CRESTAR* e 59% no *OVSYNCH* (tabela2).

Em adição, as taxas de prenhez totais não apresentam diferenças significativas entre os tratamentos com 83% e 73% respectivamente para o *CRESTAR* e *OVSYNCH*.

Tabela 2: Eficiência dos tratamentos hormonais *CRESTAR* e *OVSYNCH* na atividade reprodutiva de vacas leiteiras mestiças em anestro pós-parto, com uso da inseminação artificial.

Tratamentos	n	Prenhez		Prenhez
		1 ^a IA ¹	2 ^a IA ²	Taxa de prenhez total ³
CRESTAR	24	(15/24) 62% ^a	(5/9) 55% ^a	(20/24) 83% ^a
OVSYNCH	26	(9/26) 34,6% ^b	(10/17) 59% ^a	(19/26) 73% ^a

^{a,b} - Letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente (P<0,05);

¹ - Taxa de fêmeas prenhes à 1^a IA (n^o Prenhes 1^a IA /n^o total de vacas);

² - Taxa de fêmeas prenhes à 2^a IA (n^o Prenhes 2^a IA/ n^o vazias no 1^o DG);

³ - Taxa de prenhez total (n^o total de prenhes/ n^o total de vacas).

As ótimas percentagens de animais em estro (100%) em ambos os tratamentos evidenciou que esses protocolos foram determinantes para o restabelecimento da ciclicidade, com conseqüente redução do período de anestro pós-parto (tabela 1). O elevado número de fêmeas em cio forte que foram tratadas com CRESTAR pode justificar a taxa de prenhez mais elevada em relação às que foram submetidas ao *OVSYNCH* (tabela 1). Outros autores, como TREGASKES *et al.* (1994) e FAVERO *et al.* (1993), também constataram a eficiência de protocolos hormonais na redução do anestro pós – parto.

As taxas de retorno a ciclicidade encontradas neste experimento foram semelhantes às encontradas por FRAGA *et al.* (2001), que também obtiveram 100% dos animais em estro e bastante superiores às encontradas por PURSLEY *et al.* (1995), que não ultrapassou os 90% no protocolo *OVSYNCH* e por PORTELA *et al.* (2002), que observou estro em apenas 60% dos animais tratados com o CRESTAR.

Os resultados mostrados na tabela 2 mostram que não houve diferença estatística entre as taxas totais de prenhez entre os tratamentos *OVSYNCH* e CRESTAR (73% e 83%, respectivamente).

ARÉCHIGA *et al.* (1998), DE LA SOTA *et al.* (1998) e ALVAREZ *et al.* (1999), trabalhando com rebanho holandês em estresse calórico, obtiveram baixas taxas de gestação (aproximadamente 16%) utilizando o método *OVSYNCH* quando comparado com outros estudos realizados por PURSLEY *et al.* (1997), STEVENSON *et al.* (1999) e VASCONCELOS *et al.* (1999) que obtiveram resultados variando entre 30 e 50% de prenhez, levando-os a questionarem a eficiência deste método em rebanhos comerciais. MONTEZUMA JR (2001) encontrou taxas de 66% em rebanho comercial, que ainda foram inferiores aos encontrados neste experimento (73%), embora tendo sido utilizado o mesmo grupamento racial.

Entretanto, QUINTELA *et al.* (2002) trabalhando com animais Gir leiteiro encontrou taxa de prenhez de apenas 37,5% quando utilizou o protocolo CRESTAR e inseminação em tempo fixo 56 horas após a retirada do implante, enquanto que foi encontrado índice superior neste experimento (83%). Outros autores também obtiveram bons resultados utilizando este protocolo em rebanhos leiteiros, como PORTELA *et al.* (2002), que conseguiram emprenhar 57,89% dos animais tratados, utilizando vacas zebuínas leiteiras.

Apesar de ambos os protocolos serem indicados para utilização sem a observação de estro, ficou resolvido que, por se tratar de um grupamento racial mestiço de holandês com gir (3/8 H e 5/8 G), deveria ser observado o estro e inseminar após 12 horas do seu início, conforme manejo adotado na própria fazenda.

No protocolo *OVSYNCH*, os animais iniciaram o estro logo após a aplicação da última injeção de GnRH, sendo inseminadas 14 horas após esta administração. Este resultado confirma o uso do *OVSYNCH* em rebanhos leiteiros sem a necessidade de observação de estro, uma vez que os animais entraram em estro dentro do intervalo esperado.

Entretanto, no CRESTAR, os animais entraram em estro mais cedo que o esperado, permitindo inseminação com 40 horas após o fim do tratamento, quando o recomendado seria de 56 horas. Os resultados encontrados com a utilização deste protocolo entram em discordância com os resultados de SOUZA *et al.* (2002), que na utilização do mesmo em vacas 5/8 Girolando, em anestro pós-parto, não obteve prenhez, quando associou este protocolo ao BST.

As variáveis ordem de parto e lactação não foram levadas em consideração pelo pequeno número da amostra em ambos os tratamentos.

KLINDWORTH *et al.* (2001), observaram que o escore de condição corporal (ECC) exerce importante influência sobre o sucesso dos tratamentos hormonais. Escores com valor inferior a 2,75 ou superior a 3,25 podem afetar negativamente a taxa de prenhez. Os animais experimentais utilizados no presente trabalho encontravam – se entre 3,0 e 4,0.

O protocolo OVSYNCH apresenta fácil aplicação, é mais fácil de ser encontrado no comércio e permite redução do custo do tratamento com a utilização de hormônios similares existentes no mercado, além de permitir menor intervalo fim do tratamento/início do estro, favorecendo um menor intervalo parto/concepção.

O CRESTAR apresenta algumas dificuldades, uma vez que é necessária a aplicação de implante subcutâneo, o que requer destreza e o implante pode, eventualmente, cair ou provocar infecção com formação de abscesso. Muitas vezes, é necessária a presença do veterinário no momento da aplicação e retirada do implante.

Para se poder comparar os tratamentos, para efeito de cálculo, foram padronizados os números de animais (N=24) em cada tratamento, mantendo-se as mesmas taxas de prenhez, para não haver diferenças nos cálculos, conforme a fórmula já citada. Assim tem-se:

⇒ CRESTAR:

$$\begin{aligned} & [(Ct \times N) + (Cds \times Nia)] / Np \\ & [(25,92 \times 24) + (9,00 \times 33)] / 20 = R\$ 45.95; \end{aligned}$$

⇒ OVSYNCH:

$$\begin{aligned} & [(Ct \times N) + (Cds \times Nia)] / Np \\ & [(29,25 \times 24) + (9,00 \times 41)] / 19 = R\$ 56,37. \end{aligned}$$

Partindo do ponto em que se supõe uma margem de lucro estimada em 10% do valor do litro de leite praticado no mercado, que é de R\$ 0,60 e uma produtividade de 20 l/dia, tem-se um lucro estimado de R\$ 1,20/dia.

Dividindo-se o custo total pelo lucro estimado, temos o resultado em dias de lactação.

⇒ OVSYNCH: $56,37 / 1,20 = 46,97$ dias;

⇒ CRESTAR: $45,95 / 1,20 = 38,29$ dias.

Então, serão necessários aproximadamente 47 dias de lactação para poder pagar o custo do tratamento OVSYNCH, bem como 39 dias para financiar o CRESTAR, considerando uma produtividade de 20 l/dia.

Partindo da hipótese de ser empregado o tratamento aos 70 dias pós – parto, levando em consideração a duração dos tratamentos, que é de nove (OVSYNCH) ou onze dias (CRESTAR), têm – se redução de, no mínimo, 19 dias no anestro e, conseqüentemente, ganho de 19 dias de lactação, partindo – se do ponto em que os animais em anestro apresentam estro natural em torno de 90 a 100 dias pós – parto, portanto, justifica – se o emprego destas biotécnicas para poder melhorar o rendimento do produtor, obtendo um bezerro por ano.

8- CONCLUSÕES:

Os protocolos hormonais OVSYNCH e CRESTAR são eficientes métodos para o retorno da atividade ovariana no pós-parto, melhorando substancialmente a eficiência reprodutiva de vacas mestiças.

O protocolo CRESTAR mostrou-se mais eficiente na qualidade do estro induzido, o que poderá ter influenciado as melhores taxa de prenhez na primeira IA, determinando, portanto uma melhor relação custo/benefício.

8- PERSPECTIVAS:

São necessários mais estudos no tocante ao acompanhamento da dinâmica folicular durante e após a aplicação dos tratamentos hormonais, permitindo assim melhor monitoramento da resposta ovariana aos protocolos hormonais utilizados.

Pesquisas adicionais com um maior efetivo de animais, em rebanhos comerciais, com vários graus de mestiçagem também são necessárias para se conhecer melhor a eficiência destes protocolos hormonais nas condições de climas e manejo do semi-árido, podendo evidenciar melhores resultados que os encontrados neste experimento.

9- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ADAMS, G.P., MATTERI, R.L., KASTELIC, J.P., KO, J.C., Y GINTHER, O.J.. Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility** 94:177-188, 1992.
- ADAMS, G.P., KOT, K., SMITH, C.A., Y GINTHER, O. J. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers. **Animal Reproduction Science** 30:259-271, 1993.
- ARMSTRONG, D.G., WEBB, R. Ovarian follicular dominance: The role of intraovarian growth factors and novel proteins. **Reviews of Reproduction** 2:139-146, 1997.
- ALVAREZ, R.H.; ARCARO, J.R.P.; MASCHIO, W. Inseminação artificial em tempo pré-fixado em rebanho holandês: ineficiência do tratamento "Ovsynch"? **Rev. Brás. Reprod. Anim.** V.23, n3, p. 326-328, 1999.
- ARÉCHIGA, F.C.; STAPLES, C.R.; MACDOWEL, L.R.; HANSEN, P.J. Effects of timed insemination and supplemental β carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. **J. Dairy Sci.**, v 81, p. 390-402, 1998.
- BADINGA, L., DRIANCOURT, M.A., SAVIO, J.D., WOLFENSON, D., DROST, M., DE LA SOTA, R.L., Y THATCHER, W. W. Endocrine and ovarian responses associated with the first wave dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction** 47:871-883, 1992.
- BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. *et al.* Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. **Anim. Reprod. Sci.** v.39, p. 193-204, 1995.
- BUTLER, W.R., SMITH, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. **J. Dairy Sci**; 72:767-783, 1989.

- CAMPBELL, B.K., SCARAMUZZI, R.J., Y WEBB, R. Control of antral follicle development and selection in sheep and cattle. **Journal of Reproduction and Fertility** 49:335-350, 1995.
- CANFIELD, R.W.; BUTLER, W.R. Energy balance, first ovulation and the effects of naloxone on LH secretion in early postpartum dairy cows. **J. Anim. Sci.** 69: 740-746, 1991.
- CAVESTANY, D., W. R. H. FOOTE. Reproductive performance of Holstein cows administered GnRH analog hoe 766 (Buserelin) 26 to 34 days postpartum. **J. Anim. Sci.** 61:224-233, 1985.
- CHENAULT, J.R., THATCHER, W.W., KALRA, P.S., ABRAMS, R.M., WILCOX, C.J. Transitory changes in plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone approaching ovulation in the bovine. **Journal of Dairy Science** 58:709-717, 1975.
- CHENAULT, J.R., THATCHER, W.W., KALRA, P.S., ABRAMS, R.M., Y WILCOX, C.J. Plasma progestins, estradiol, and luteinizing hormone following prostaglandin F₂α injection. **Journal of Dairy Science** 59:1342 – 1346, 1976.
- COSTUMIER, J. Alimentation dès vaches allaitantes. **Communication à la réunion annuelle de de l'Association pour l'Etude de la Reproduction Animale.** 1996.
- DE LA SOTA, R.L.; BURKE, J.M.; RISCO, C.A.; MOREIRA,F.; DELORENZO, M.A.; THATCHER, W.W. Evaluation of timed insemination during summer heat stress in lactating dairy cattle. **Theriogenology**, v.49, p. 761-770, 1998.
- DERIVAUX, J. & ECTORS, F. **Reproduction chez les animaux domestiques.** Cabay, Louvain la Neuve, Belgique. 1985.
- DRIANCOURT, M.A., THATCHER, W.W., TERQUI, M., Y ADRIEU, D. Dynamics of ovarian follicular development in cattle during the estrous cycle, early pregnancy and in response to PMSG. **Domestic Animal Endocrinology** 8:209-221, 1991.
- ERICKSON, B.H. Development and senescence of the postnatal bovine ovary. **Journal of Animal Science** 25:800-805, 1966.
- FAVERO, R.J.; FAULKNER, D.B.; KESLER, D.J. Norgestomet implants synchronize estrus and enhance fertility in beef heifers subsequent

- to a timed artificial insemination. **J. Anim. Sci.** , 71(10):594-600, 1993.
- FERREIRA, A.M. Nutrição e atividade ovariana em bovinos: uma revisão. **Pesq.Agrop.Brás.** v.28, n.9, p. 1077-1093, 1993.
- FORTUNE, J.E., HANSEL, W. Concentrations of steroids and gonadotropins in follicular fluid from normal heifers and heifers primed for superovulation. **Biology of Reproduction** 32:1069-1079. 1985.
- FORTUNE, J.E., SIROIS, J., QUIRK, S.M. The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. **Theriogenology** 29:95-109, 1988.
- FORTUNE, J.E., SIROIS, J., TURZILLO, A.M., LAVOIR, M. Follicle selection in domestic animals. **Journal of Reproduction and Fertility** 43:187-198, 1991.
- FORTUNE, J.E. Follicular dynamics during the bovine estrous cycle: A limiting factor in improvement of fertility? **Animal Reproduction Science** 33:111-125, 1993.
- FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. **Biology of Reproduction** 50:225-232, 1994.
- FRAGA, D.B.M.;TORRES, C.A.L.; GUIMARÃES, J.D.; MAFFILI, V.V.;MAESTRI, B.D.; BARBOSA, L.P.; PAIVA, F.P.; BORGES, A.M.; SANTOS, A.D.F.; FONSECA, J.F. Avaliação de dois protocolos hormonioterápicos para a sincronização da ovulação em rebanho leiteiro. **Rev. Brás. Reprod. Anim.** V.25, n3, p. 316-317, 2001.
- FUNCEME. **Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos.** Fortaleza, 2001. Não paginado. Disponível em < <http://www.funceme.br>>. Acesso em :29 set.2001.
- GINTHER, O.J., KASTELIC, J.P., KNOPF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Animal Reproduction Science** 20:187-200, 1989.
- GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; MARTIN, S.; WILTBANK, M.C. Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility** 108: 271-279, 1998.

- GOODMAN, A., Y HODGEN, G.D. The ovarian triad of the primate menstrual cycle. **Recent Progress in Hormone Research** 39:1-73, 1983.
- GRUNERT, E. Hormontherapie beim Rind. Prakt. **Tierarzt** 60, 578-585, 1979.
- HAFEZ, E.S.E.; **Reprodução Animal**, 6ª Ed., São Paulo: Manole, 1995. p. 95-114.
- HAMUDIKUWANDA, H.; ERB, H.N. SMITH, R.D. Effects of sixty day milk yield on postpartum breeding performance in Holstein cows. **J.Dairy Sci** 70: 2355-2365, 1987.
- HANSEL, W., CONVEY, E.M. Physiology of the oestrus cycle. **J. Animal Science**. 57:Suppl.2, 404, 1983.
- HILLIER, S.G., YONG, E.L., ILLINGWORTH, P.J., BAIRD, D.T., SCHWALL, R.H., MASON, A.J. Effect of a recombinant inhibin on androgen synthesis in cultured human theca cells. **Molecular Cell Endocrinology** 75:1-6, 1991.
- HOPKINS, S.M. Reproductive Patterns of Cattle. **Veterinary endocrinology and reproduction**. L.E McDonald. 4ª ed. Lea & Ferbigar, Philadelphia, London. 1989.
- IBGE. **Anuário Estatístico do Brasil**, 1996:v 56. Rio de Janeiro, 1996.
- IBGE. **Anuário Estatístico do Brasil**, 1999. Disponível em < <http://www.ibge.com.br> > em 29 set.2001.
- IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. Development of non-ovulatory antral follicles in heifers: Changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. **Endocrinology** 112:150-156, 1983a.
- IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: Changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles. **Journal of Animal Science** 57:157-167, 1983b.
- IRELAND, J.J., ROCHE, J.F. Hypothesis regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. **In: Follicular growth and ovulation rate in farm animals. J.F. Roche & D.**

- O'Callaghan**. Ed. Martinus Hijhoff Publishers, The Hague. pp. 1-18, 1987.
- IRELAND, J.J. Control of follicular growth and development. **Journal of Reproduction Fertility** 34:39-54, 1987.
- KESLER, D.J.; FAVERO, R.J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate: parte1: Mechanism of action. **Agri-Pract**, v. 16, p. 6-11, 1995.
- KESLER, D.J.; FAVERO, R.J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate: parte 2: Factors limiting and enhancing efficacy. **Agri-Pract**, v. 17, p. 12-17, 1996.
- KINSEL, M.L., ETHERINGTON, W.G. Factors affecting reproductive performance in Ontario dairy herds. **Theriogenology** 50:1221-1238, 1998.
- KLINDWORTH, H.P.; HOEDEMAKER, M.; BURFEINDT, D.; HEILKENBRINKER, T. Synchronization of ovulation (OVSYNCH) in high-producing dairy cattle herds. I. Fertility parameters, body condition score and plasma progesterone contraction. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* Jan; 108(1): 11-9, 2001.
- KNICKERBOCKER, J.J. *et al.* Endocrine Patterns During the Initiation of Puberty, the Estrous Cycle, Pregnancy and Parturition in Cattle. **Current Therapy in Theriogenology** 2: 117-125, 1986.
- LARSON, L.L.; BALL, P.J.M. Regulation of estrus cycles in dairy cattle : a review. **Theriogenology** 38:255-267, 1992.
- LUCY, M.C., SAVIO, J.D., BADINGA, L., DE LA SOTA, R.L., THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science** 70:3615-3626, 1992.
- LUSSIER, J.G., MATTON, P., DUFOUR, J.J. Growth rates of follicles in the ovary of the cow. **Journal of Reproduction and Fertility** 81:301-307, 1987.
- MARION, G.B., GIER, H.T., CHOUDARY, J.B. Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. **Journal of Animal Science** 27:451-465, 1968.

- MATTON, P., ADELAKOUN, V., COUTURE, Y., DUFOUR, J.J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. **Journal of Animal Science** 52:813-820, 1981.
- MIES FILHO, ANTÔNIO. **Reprodução dos animais domésticos e inseminação artificial**. Editora Sulina. 5ª ed, 1º volume.1982.
- MIES FILHO, ANTÔNIO. **Inseminação Artificial**. Editora Sulina. 6ª Edição, 2º Volume. 1987.
- MIHM, M. Delayed resumption of cyclicity in postpartum dairy and beef cattle. **Reprod. Dom. Anim.**, v.34, p. 277-284, 1999.
- MONGET, P., MONNIAUX, D. Growth factors and the control of folliculogenesis. **Journal of Reproduction and Fertility** 49:321-333, 1995.
- MONNIAUX, D., MONGET, P., BESNARD, N., HUET, C., PISSELET, C. Growth factors and antral follicular development in domestic ruminants. **Theriogenology** 47:3-12, 1997.
- MONTEZUMA JR, P.A. Desempenho reprodutivo pós-parto de vacas leiteiras mestiças (3/8 Holandês X 5/8 Gir) submetidas a um tratamento hormonal à base de GnRH e prostaglandina F2 α . **Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) – Universidade Federal do Ceará – UFC**. Fortaleza - CE, 2001, 70 p.
- MORROW et al. Estrous and ovarian activity in pubertal heifers. **J. Animal Sci.** 31:232, 1970.
- MURTA, J.E.J.; ANDRADE, V.J.; PEREIRA, J.C.C.; VALE FILHO, V.R. Taxas de prenhez em vacas nelore com a utilização do protocolo CRESTAR para a sincronização do cio. **Rev. Bras. Rep. Anim.** v.25, n.1, p. 30-35.2001.
- OLIVEIRA, M.A.L.; OLIVEIRA,E.J.V.; SANTOS FILHO,A.S. Uso do CIDR associado ao GnRH ou eCG para restabelecer a ciclicidade de vacas girolando em anestro pós-parto. **Rev.Bras.Reprod.Anim.**, v.23, p.336-337, 1999.
- PANKOWSKI, J.W.; GALTON, D.M.; ERB, H.N.; GUARD, C.L.; GROHN, Y.T. Use of prostaglandin F2 α as a postpartum reproductive management tool for lactating dairy cows. **J. Dairy Sci**; 78:1477-1488, 1995.

- PETERS, A.R., BALL, PJH. **Reproduction in cattle**. Butterworth – UK, 1994.
- PETIT et al. Etat corporel des vaches allaitantes Charolaises. **INRA Production Animale** 93.6 (5) 311-319, 1993.
- PIERSON, R. A., GINTHER, O. J. Ultrasonography of the bovine ovary. **Theriogenology** 21:495-504, 1984.
- PORTELA, A.P.M.; RIBEIRO FILHO, A. DE L.; QUINTELA, A.T.; CHALHOUB, M.; BITTENCOURT, R.F.; GUERRA, R.D.; OLIVEIRA, J.V.L.; GUSMÃO, A.L.; VALE FILHO, V.R. Influência do status ovariano sobre a taxa de prenhez de vacas zebus leiteiras sincronizadas com norgestomet e valerato de estradiol. **Rev. Brás. Reprod. Anim.** Supl. n. 5, p. 71-72, 2002.
- PURSLEY, J.R., MEE, M.O., WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2α and GnRH. **Theriogenology**, v.44. p.915-23, 1995.
- PURSLEY, J.R.; KOSOROK, M.R.; WILTBANK, M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **J. Dairy Sci.** 80:301-306, 1997.
- QUINTELA, A.T.; RIBEIRO FILHO, A. DE L.; PORTELA, A.P.M.; CHALHOUB, M.; BITTENCOURT, R.F.; GUERRA, R.D.; OLIVEIRA, J.V.L.; GUSMÃO, A.L.; VALE FILHO, V.R. Associação entre valerato de estradiol e eCG para sincronizar a ovulação de vacas Gir e inseminar em tempo fixo. **Rev.Brás.Reprod.Anim.** Supl. n 5, p. 73-74, 2002.
- RAJAKOSKI, E. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left right variations. **Acta endocrinologica** 52: 1-68, 1960.
- RAJAMAHENDRAN, R.; MANIKKAM, M. Effects of exogenous steroid hormones on the dominant follicle maintained by a Norgestomet implant in heifers. **Can. J. Anim. Sci.** v. 74, p. 457-464, 1994.
- RICHARDS, J.S., HEDIN, L. Molecular aspects of hormone action in ovarian follicular development, ovulation, and luteinization. **Annual Review of Physiology** 50:441-463, 1988.

- ROBINSON, T.J.; SHELTON, J.N. Reproduction in cattle. In: **Reproduction in Domestic Animals**. Ed. P. T. Cupps. 4th. Edition. Academic Press, Inc, San Diego, p. 445-470, 1991.
- ROCHE, J.F. Control and regulation of folliculogenesis - A symposium in perspective. **Reviews of Reproduction** 1:19-27, 1996.
- SAMBRAUS, H.H. Nut ztierethologie. Berlin e Hamburg, **Parey Verlag**, 1978.
- SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility** 83:663-671, 1988.
- SAVIO, J.D.; BOLAND, M.P.; HYNES, N.; ROCHE, J.F. Resumption of follicular activity in the early post-partum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility** 88:569-579, 1990a.
- SAVIO, J.D.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Development of dominant follicles and length of ovarian cycles in post-partum dairy cows. **Journal of Reproduction and Fertility** 88:581-591, 1990b.
- SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; WOLFENSON, D. Regulation of dominant follicle turnover during the estrous cycle in cows. **Journal of Reproduction and Fertility** 97:197-203, 1993a.
- SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M.R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility** 98:77-84, 1993b.
- SHEMESH, M.; HANSEL, W. Levels of prostaglandin F (PGF₂ α) in bovine endometrium, uterine venous, ovarian arterial and jugular plasma during the estrous cycle. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.** 148, 123-125, 1975.
- SINGH, U.; KHURANA, N.K.; INDERJEET. Plasma progesterone profiles and fertility status of anoestrus zebu cattle treated with norgestomet-estradiol-ecg regimen. **Theriogenology**, v.50, p.1191-1199, 1998.

- SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle monitored by real time ultrasonography. **Biology of Reproduction** 39:308-317, 1988.
- SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: A model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology** 127:916-925, 1990.
- SOUZA, M.C.N.; OLIVEIRA, M.A.L.; SANTOS FILHO, A.S.; LIMA, P.F.; AZEVEDO NETO, J.; TENÓRIO FILHO, F.; PINA, V.M.R.; OLIVEIRA, L.R.S. Utilização de Crestar e BST no pós – parto de vacas 5/8 Girolando. **Rev.Brás.Reprod.Anim.** v.26, n.3, p.243-246, 2002.
- STEVENS, M; HOPPINKS, D.V.M. Bovine anestrus. In: MORROW, D.A. **Current Therapy in Theriogenology**. Philadelphia, London, Toronto. W.B. Saunders Company, 1989.
- STENVENSON, J.S.; KOBAYASHI, Y.; THOMPSON, K.E.; Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of gonadotropin releasing hormone and prostaglandine F2 α . **J. Dairy Sci.** v. 82, p. 506-515, 1999.
- SUNDERLAND, S.J.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.B.; ROCHE, J.F.; IRELAND, J.J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrus cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility** 101:547-555, 1994.
- TAINTURIER, D. Pathologie de la reproduction de la vache. **Supplément technique, n° 64 à la Dépêche Vétérinaire** du 1 au 7 mai 1999.
- TATCHER, W.W.; TERQUI, M.; THIMONIER, J. *et al.* Effect of estradiol-17 β on peripheral plasma concentration of PGF2 α and luteolysis in cyclic cattle. **Prostaglandins**, v.31, p. 745-756, 1986.
- TORTONESE, D.J.; LEWIS, P.E.; PAPKOFF, H.; INSKEEP, K.E. Roles of the dominant follicle and the pattern of estradiol in induction of preovulatory surges of LH and FSH in prepubertal heifers by pulsatile low doses of LH. **Journal of Reproduction and Fertility** 90:127-135, 1990.

- TREGASKES, L.D.; BROADBENT, P.J.; DOLMAN, D.F.; GRIMMER, S.P.; FRANKLIN, M.F. Evaluation of Crestar, a syntetic progestogen regime, for sinchronising oestrus in maiden heifers used as recipients of embryo transfers. **Vet. Rec.** 134(4) 92-94, 1994.
- TURZILLO, A.M.; FORTUNE J.E. Suppression of the secondary FSH surge with bovine follicular fluid is associated with delayed ovarian follicular development in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility** 89:643-653, 1990.
- VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J.M.; PURSLEY, J.R.; WILTIBANK, M.C.; Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of estrus cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**. v. 52, p. 1067-1078, 1999.
- VILELA, D.; BRESSAN, M.; CUNHA, A.S. (Ed) Restrições técnicas, econômicas e institucionais ao desenvolvimento da cadeia produtiva do leite no Brasil. Brasília: nCT/CNPq/PADCT; Juiz de Fora: **EMBRAPA. CNPGL**, 1999. 211 P.
- WALTERS, D.; SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotropins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility** 71:503-512, 1984.
- WEBB, R.; GONG, J.G.; LAW, A.S.; RUSBRIDGE, S.M. Control of ovarian function in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility** 45:141-156, 1992.
- WILDMAN, E. E., et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selection production characteristics. **J Dairy. Sci**, v.65,p. 495, 1982.
- WILTIBANK, M.C. Uso eficaz de hormônios de reprodução: período logo após o parto. In: Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos. **Anais...**, P. 25-29. 2000.
- WRATHALL, J.H.M.; KNIGHT, P.G. Production of immunoactive inhibin by bovine granulosa cells in serum-free culture: effects of exogenous steroids and FSH. **Domestic Animal Endocrinology** 10:289-304, 1993.

- XU, Z.Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W.; SMITH, M.F.; HAMILTON, S.A.; YOUNGQUIST, R.S. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction** 53:951-957, 1995a.
- XU, Z.Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W.; SMITH, M.F.; HAMILTON, S.A.; YOUNGQUIST, R.S. Expression of messenger ribonucleic acid encoding cytochrome P450 side-chain cleavage, cytochrome P450 17 α -hydroxylase, and cytochrome P450 aromatase in bovine follicles during the first follicular wave. **Endocrinology** 136:981-989, 1995b.
- XU, Z.Z.; BURTON, L.J. Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, progesterone, and prostaglandin F2 alpha. **J Dairy Sci** Mar; 83(3): 471-6, 2000.
- YUAN, W., BAO, B.; GARVERICK, H.A.; YOUNGQUIST, R.S.; LUCY, M.C. Follicular dominance in cattle is associated with divergent patterns of ovarian gene expression for insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-II, and IGF binding protein-2 in dominant and subordinate follicles. **Domestic Animal Endocrinology** 15:55-63, 1998.

10- ANEXOS:

Anexo 1- Animais experimentais – 3/8 Holandês/5/8 Gir.

Anexo 2- Sombreamento natural e artificial nos piquetes.

Anexo 3- Hormônios e material utilizado no protocolo *OvSynch*.

Anexo 4- Hormônios utilizados no protocolo Crestar[®].

Anexo 5- Animais em estro.

Anexo 6- Muco no momento da inseminação artificial.

Anexo 7- Diagnóstico de gestação por palpação retal.

Anexo 8- Ovário com folículos pequenos, característicos de anestro pós – parto.

Anexo 9- Produção de leite por vaca, de acordo com os Estados e Regiões.

Anexo 10- Produção Brasileira de leite, de acordo com os Estados e Regiões.

Ordem	Nº	D. Parto	Nasc.	Ordem Parto	L/S	E.C.C.	St. Uterino	St. Ovariano

Anexo 11- Ficha de exame ginecológico – triagem dos animais.

Animal	Trat.	Fim Trat.	Início Estro	Qualidade	FimTrat.- Início Estro	Data IA

Anexo 12- Ficha de observação do estro.

