

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

DESEMPENHO REPRODUTIVO EM NOVILHAS *Bos indicus* E *Bos taurus* x *Bos indicus* SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO.

ADNAN DARIN PEREIRA RODRIGUES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU - SP  
dezembro – 2016  
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
CAMPUS DE BOTUCATU

DESEMPENHO REPRODUTIVO EM NOVILHAS *Bos indicus* E *Bos taurus* x *Bos indicus* SUBMETIDAS A PROTOCOLOS DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO.

ADNAN DARIN PEREIRA RODRIGUES

Médico Veterinário

Orientador: Prof. Ass. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

a

BOTUCATU - SP  
dezembro – 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - DIRETORIA TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

Rodrigues, Adnan Darin Pereira, 1987-

Desempenho reprodutivo em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* submetidas a protocolos de sincronização da ovulação / Adnan Darin Pereira Rodrigues. – Botucatu : [s.n.], 2016

xiii, 86 f. :            ils., graf., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu - 2016

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos  
Inclui bibliografia

1. Bovino - Reprodução. 2. Bovino – Maturidade sexual. 3. Bovino – Inseminação artificial. 4. Ovulação.

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte”.

“A dream you dream alone is only a dream. A dream you dream together is reality.”

(John Lennon)

Aos meus pais **Adauto** e **Oneide**, meus irmãos **Aurelly**, **Breno** e **Nubia**, nosso anjo **Miguel**, minha namorada **Amanda** e minha família, por sonharem junto comigo.

Conseguimos, o sonho é real!!

A vocês...

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus e nossos irmãos de luz, por todo o auxílio e amparo recebido durante esta caminhada.

Ao meu orientador Prof. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos (Zequinha), pela oportunidade e convivência. Por ser um exemplo de vida, dedicação e trabalho. Por ter feito a diferença na minha vida profissional e pessoal. Que você continue a ser a diferença na vida de mais pessoas. Serei eternamente grato.

Ao Prof. Mike Day por estar sempre de portas abertas nos EUA. Pela amizade, confiança, auxílio com os dados e artigos e pelos Camparis!!!. Humildade e simplicidade em pessoa. Thanks a lot boss!!!

Ao Tiago Leiva, pela amizade, conversas, piadas sem graça e principalmente por sempre me socorrer com os documentos da pós!

Ao Rogério Fonseca Guimarães Peres (Presidente dos pops pecuária), pelo exemplo de profissional, amizade, conselhos, conversas fiadas e colaboração na tese. Por sempre estar com os prazos no limite, tamu junto!!!

Aos grandes amigos e “popstars” da pecuária: Izaias Claro Junior (vulgo “Junão”), Everton Rodolfo de Carvalho (codinome “Beto Balada”), Lucas Furtado Barbosa (vulgo “Careca de Liveira”), Fernando Henrique Souza Aono (famoso “Japa no Ear”), Leandro Henrique Cruppe (muito conhecido no oeste americano como “Banjo”) obrigado pela amizade e companheirismo sempre.

A família VB: Dr. Vicente, Be, Ricardo, Marcelo, Leandro e familiares. Muito obrigado por toda a confiança e por todo o apoio na reta final da tese. Pessoas maravilhosas com quem tenho o prazer de conviver e aprender diariamente. Vocês são um grande exemplo de trabalho, amor e união para mim.

A Zoetis, em nome de Mauro Meneghetti e Elci Rincon Ferreira, obrigado por todo apoio durante a realização dos experimentos.

A República Karca 1 Gole e todos os irmãos de lá, “Tutti per uno”.

Ao Ricardo Turquetto e Preta, pela amizade, por sempre me acolherem e por proporcionarem inúmeros momentos de alegria no Goiás.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da UNESP – Botucatu: Seila, Carlos e Ellen e do Departamento de Produção Animal: Renato, José Luis Barbosa por sempre estarem à disposição, por toda ajuda recebida nesses anos em Botucatu e pela interminável paciência!

A todos os estagiários que colaboraram com esta pesquisa, a ajuda de vocês foi fundamental.

A todos os vaqueiros e moradores das fazendas envolvidas, obrigado pela imensa ajuda, e por compreenderem a importância dos estudos. Sem vocês nada disso teria sido possível.

Ao Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela importante bolsa fornecida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), por proporcionar importante bolsa para realização do doutorado (Processo nº 2014/05270-9).

As novilhas envolvidas nestes experimentos.

**Muito obrigado a todos!**

**SUMÁRIO**

LISTA DE ABREVIATURAS .....	ix
SUMÁRIO DE TABELAS .....	x
SUMÁRIO DE FIGURAS .....	xi
CAPÍTULO 1 .....	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO .....	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Fisiologia do Ciclo Estral em bovinos .....	4
2.2. Fisiologia da Puberdade .....	5
2.3. Estratégias para antecipar a puberdade .....	6
2.4. Sincronização da Ovulação para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) .....	9
2.5. IATF em Novilhas .....	11
2.5.1. Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) .....	12
2.6. Particularidades na fisiologia reprodutiva de fêmeas <i>Bos indicus</i> e <i>Bos taurus</i> vs <i>Bos indicus</i> 13	
3. Referências Bibliográficas .....	17
CAPÍTULO 2.....	28
“Experimento 1” .....	28
Avaliação da IATF em novilhas <i>Bos indicus</i> e <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> púberes ou submetidas à indução de puberdade .....	28
RESUMO.....	29
ABSTRACT .....	31
1. Introdução .....	33
2. Material e Métodos .....	33
2.1. Animais e localidade.....	33
2.2. Delineamento Experimental.....	34
2.3. Avaliações Ultrassonográficas.....	34
2.4. Grupos Experimentais.....	35
2.5. Análise Estatística.....	35
3. Resultados .....	35
4. Discussão.....	36
5. Referências .....	38
Tabelas e figuras .....	41
CAPÍTULO 3.....	44

“Experimento 2” .....	44
Desempenho reprodutivo em novilhas Bos indicus e Bos taurus x Bos indicus aos 12 meses de idade .....	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT .....	47
1. Introdução .....	49
2. Material e Métodos .....	49
2.1. Animais e localidade.....	49
2.2. Delineamento experimental .....	50
2.3. Análise Estatística.....	50
3. Resultados .....	51
4. Discussão.....	51
5. Referências .....	54
Tabelas e figuras .....	57
CAPÍTULO 4.....	62
“Experimento 3” .....	62
Influência da raça, concentração de progesterona circulante e tratamento com eCG em novilhas Bos indicus e Bos taurus x Bos indicus submetidas a protocolos de sincronização da ovulação .....	62
RESUMO.....	63
ABSTRACT .....	65
1. Introdução .....	67
2. Material e Métodos .....	68
2.1. Animais e localidade .....	68
2.2. Delineamento Experimental .....	68
2.3. Avaliações Ultrassonográficas .....	69
2.4. Colheita de Sangue para dosagem de progesterona .....	69
2.5. Análise Estatística.....	69
3. Resultados .....	70
4. Discussão.....	72
5. Referências .....	75
Tabelas e figuras .....	79
CAPÍTULO 5.....	85
CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES.....	85

## LISTA DE ABREVIATURAS

AT	- Alta Tecnologia
BE	- Benzoato de Estradiol
BI	- Novilhas Bos indicus
BT	- Baixa Tecnologia
Ca	- Cálcio
CIDR	- Control Intern Drug Release
CL	- Corpo Lúteo
Co	- Cobalto
CR	- Novilhas Bos taurus x Bos indicus
Cu	- Cobre
E2	- Estradiol
ECC	- Escore de Condição Corporal
eCG	- Gonadotrofina Coriônica Equina
ECP	- Cipionato de Estradiol
EE	- Extrato Etéreo
EnLiq	- Energia Líquida
FDN	- Fibra Detergente Neutra
FSH	- Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	- Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
HPB	- Holandês Preto e Branco
I	- Iodo
IA	- Inseminação Artificial
IATF	- Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IFN-tau	- Interferon tau
K	- Potássio
Kg/d	- Quilogramas por dia
LH	- Hormônio Luteinizante
Mcal/Kg	- Megacalorias por quilo
MGA	- Acetato de Melengestrol
Mn	- Manganês
Na	- Sódio
ng/mL	- Nanogramas por mililitro
NP-Ind	- Novilhas Púberes Induzidas
NPP	- Novilhas Pré-púberes
NPP-Ind	- Novilhas Pré-púberes Induzidas
P	- Fósforo
P4	- Progesterona
PB	- Proteína Bruta
PGF2 $\alpha$	- Prostaglandina F2alpha
S	- Enxofre
Se	- Selênio
US	- Ultrassom
Zn	- Zinco

**SUMÁRIO DE TABELAS**

	Página
<b>CAPÍTULO 1</b>	
Tabela 1.....	19
Resumo dos resultados obtidos por Gasser e colaboradores em seus estudos. Adaptado de Day, et al. 2009	
<b>CAPÍTULO 3</b>	
Tabela 1.....	69
Composição dos ingredientes e perfil dos nutrientes da dieta fornecida as novilhas <i>Bos indicus</i> e <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> .	
<b>CAPÍTULO 4</b>	
Tabela 1.....	92
Diâmetro folicular no Dia 9 e 11 do protocolo de IATF de acordo com o grupo genético, tratamento com eCG e nível de P4 no Dia 9 em novilhas submetidas ao protocolo para sincronização da ovulação.	

## SUMÁRIO DE FIGURAS

	Página
<b>CAPÍTULO 1</b>	
Figura 1 .....	14
Rentabilidade das diferentes atividades do ano de 2015 (Scot Consultoria, 2015).	
Figura 2 .....	18
Características dos eventos que precede a puberdade em novilhas. Adaptado de Maquivar et al. (2009).	
<b>CAPÍTULO 2</b>	
Figura 1 .....	53
Delineamento Experimental: Duas avaliações por US consecutivas para avaliar presença de CL (D -34 e -24); todas as novilhas pré-púberes e 1/3 das novilhas ciclando receberam o protocolo de indução associado ao protocolo de IATF. D -24: CIDR; D -12: Retirada do CIDR + 0,6 mg im de ECP; D 0: Todas as novilhas tratadas com o seguinte protocolo de IATF: CIDR 3º uso + 2,0 mg im de BE; D 7: Novilhas púberes receberam 12,5 mg im PGF; D 9; Retirada do CIDR + 12.5 mg im PGF (Novilhas induzidas) e 0,6 mg im ECP; D 11: IATF; D 41 Diagnóstico de gestação. 2015).	
Figura 2 .....	54
Taxa de indução de puberdade de acordo com a raça e fazenda. CR: Novilhas <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> ; BI: Novilhas <i>Bos indicus</i> .	
Figura 3 .....	54
Taxa de prenhez a IATF de acordo com o grupo experimental na fazenda 1. Controle: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo padrão; NP-Ind: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF; NPP-Ind: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que responderam ao protocolo de indução; NPP: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que não responderam ao protocolo de indução. a-b: Médias diferem estatisticamente entre si (P < 0,05).	
Figura 4 .....	55
Taxa de prenhez a IATF de acordo com o grupo experimental na fazenda 2. Controle: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo padrão;	

NP-Ind: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF;

NPP-Ind: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que responderam ao protocolo de indução;

NPP: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que não responderam ao protocolo de indução.

a-b: Médias diferem estatisticamente entre si ( $P < 0,05$ ).

### CAPÍTULO 3

Figura 1 .....	70
<p>Delineamento Experimental. Bezerras foram desmamadas (15/Maio) e foram recriadas no confinamento; Todas as novilhas receberam o protocolo de indução associado a IATF [8]. D-22: CIDR de 4<sup>o</sup> uso; D - 12: Retirada do CIDR + 0,3 mg de ECP; D0: CIDR 3<sup>o</sup> uso+ 2,0 mg de BE e avaliação ultrassonográfica para avaliar a presença de CL.D 7: Aplicação de 12,5 mg de PGF; D 9: Retirada do CIDR + 0,3 mg de ECP; D11: Inseminação Artificial; D 41: Diagnóstico de gestação, novilhas vazias receberam o mesmo protocolo de IATF descrito anteriormente. Novilhas prenhas foram solta para o pasto. D52: 2<sup>a</sup> Inseminação Artificial; D 82: Diagnostico de gestação 2<sup>a</sup> IA.</p>	
Figura 2 .....	71
<p>Taxa de ciclicidade no início do protocolo de IATF de acordo com o grupo genético (CR: novilhas Bos taurus x Bos indicus; BI: novilhas Bos indicus) em novilhas submetidas ao protocolo de indução associado à IATF.</p>	
Figura 3 .....	71
<p>Probabilidade de ciclicidade no Dia 0 do protocolo de IATF de acordo com o peso corporal.</p>	
Figura 4 .....	72
<p>Taxa de prenhez no 1<sup>o</sup> protocolo de IATF de acordo com o grupo genético (CR: novilhas Bos taurus x Bos indicus; BI: novilhas Bos indicus) em novilhas submetidas ao protocolo de indução associado à IATF.</p>	
Figura 5 .....	72
<p>Taxa de prenhez na 1<sup>a</sup> IATF de acordo com a presença de CL no Dia 0 do protocolo de IATF.</p>	
Figura 6 .....	73
<p>Taxa de prenhez ao final da estação de monta (1<sup>a</sup> + 2<sup>a</sup> IATF) de acordo com o grupo genético (CR: novilhas Bos taurus x Bos indicus; BI: novilhas Bos indicus) em novilhas submetidas ao protocolo de indução associado à IATF.</p>	

## CAPÍTULO 4

Figura 1 .....	91
<p>Diagrama do delineamento experimental – a) Novilhas com CL na primeira avaliação: D 0: Início do Protocolo de IATF, Inserção de dispositivo intravaginal de P4 e aplicação de 2mg de benzoato de estradiol; D 7: aplicação 12,5 mg de dinoprost tromethamine; D 9: Retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol, 12,5 mg de dinoprost tromethamine e distribuição aleatória das novilhas para receberem 0 ou 200 UI de eCG; D11: Inseminação Artificial. b) Novilhas Tratadas com protocolo de indução: D 24: Inserção de dispositivo intravaginal de P4; D -12: Retirada do dispositivo a aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol; D 0: Início do Protocolo de IATF, Inserção de dispositivo intravaginal de P4 e aplicação de 2mg de benzoato de estradiol; D 9: Retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol, 12,5 mg de dinoprost tromethamine e distribuição aleatória das novilhas para receberem 0 ou 200 UI de eCG; D11: Inseminação Artificial.</p>	
Figura 2 .....	92
<p>Correlação entre o diâmetro do maior folículo no Dia 9 e o diâmetro do maior folículo no Dia 11.</p>	
Figura 3 .....	93
<p>Correlação entre a concentração sérica de P4 no Dia 18 (7 dias após a IA) e o diâmetro do maior folículo no Dia 11 (IA).</p>	
Figura 4 .....	93
<p>Efeito do diâmetro do maior folículo presente no ovário no Dia 9 ou Dia 11 na probabilidade de concepção a IATF.</p>	
Figura 5 .....	94
<p>Efeito da concentração sérica de progesterona no momento da retirada do dispositivo (Dia 9) na probabilidade de concepção.</p>	
Figura 6 .....	94
<p>Efeito da concentração sérica de progesterona no momento da retirada do dispositivo (Dia 9) na probabilidade de concepção em novilhas <i>Bos indicus</i> (BI) e <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> (CR).</p>	
Figura 7 .....	95
<p>Taxa de Ovulação, Taxa de Concepção e Taxa de Prenhez a IATF em novilhas <i>Bos indicus</i> (BI) e novilhas <i>Bos taurus</i> x <i>Bos indicus</i> (CR) submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação.</p>	
Figura 8 .....	95

Taxa de Ovulação, Taxa de Concepção e Taxa de Prenhez a IATF em novilhas classificadas de acordo com a concentração sérica de P4 em Baixa ( $\leq 2,03$  ng/mL) e Alta ( $> 2,03$  ng/mL) submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação.

Figura 9 .....96

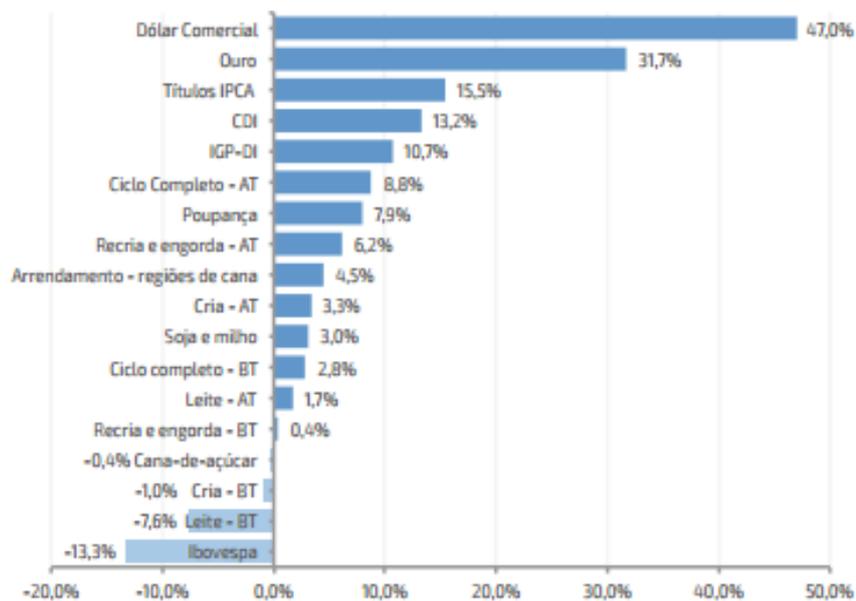
Taxa de Ovulação, Taxa de Concepção e Taxa de Prenhez a IATF em novilhas que receberam 0 ou 200 UI de eCG no momento da retirada do CIDR (Dia 9) em novilhas submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação.

**CAPÍTULO 1**  
**CONSIDERAÇÕES INICIAIS**

## 1. INTRODUÇÃO

A pecuária de corte no Brasil baseia-se principalmente em sistemas extensivos, que apresentam baixos custos operacionais, conseqüentemente, atrelados à menor rentabilidade. Entretanto, este cenário vem mudando gradativamente nos últimos anos, principalmente devido a fatores como o aumento no custo de produção, expansão da agricultura em áreas que eram predominantemente de pecuária e também a restrição na abertura de novas áreas de pastagens.

É sabido que a cria apresenta a menor rentabilidade por área produtiva dentre as atividades de pecuária, chegando a apresentar resultados negativos em sistemas extensivos com baixa ou nenhuma adoção de tecnologias (figura 1; SCOT, 2015). Com a crescente valorização no preço do bezerro nos últimos anos, a atividade de cria melhorou seus indicadores financeiros, atraindo novos investidores e estimulando a adoção de estratégias que permitem maximizar a produção e, conseqüentemente, a rentabilidade da atividade.



AT: aplicação crescente de tecnologia; BT: baixa tecnologia.

Figura 1 – Rentabilidade das diferentes atividades no ano de 2015 (Scot Consultoria, 2015).

A adoção de tecnologias como o uso de inseminação artificial (IA), protocolos de sincronização da ovulação para IA em tempo fixo (IATF), suplementação estratégica no período de menor disponibilidade de pastagens, utilização de confinamento, a

busca de animais mais produtivos através do melhoramento genético e/ou cruzamento entre raças e integração lavoura-pecuária, vem mudando de maneira significativa os parâmetros de produção e o resultado econômico das fazendas de cria.

A atividade de cria baseia-se na produção de bezerros, que ao serem desmamados e vendidos geram receita ao produtor. Para garantir a máxima eficiência reprodutiva e consequente aumento na rentabilidade, é imprescindível que o maior número possível de fêmeas fique gestante durante a estação de monta. O conhecimento de fatores que interferem no sucesso das técnicas de reprodução e a busca por ferramentas que possibilitem a melhoria nesses índices se faz indispensável.

Dentre as categorias trabalhadas na estação de monta, as novilhas são as que possuem o maior mérito genético e serão as futuras matrizes da propriedade, contudo essa categoria animal geralmente apresenta índices reprodutivos inferiores aos de vacas adultas. Novilhas que emprenham na primeira estação de monta, produzem mais bezerros durante toda sua vida reprodutiva, além de permanecerem no rebanho por mais tempo. Diversos trabalhos buscaram identificar os fatores que interferem no sucesso da técnica de IATF em novilhas, dentre esses fatores podemos citar a quantidade de novilhas pré-púberes no início da estação de monta, o efeito negativo das altas concentrações de progesterona (P4) e a presença de folículos pequenos no momento da IATF.

Além disso, a utilização em larga escala de protocolos de IATF, levou ao aumento na quantidade de animais produtos F1 *Bos taurus* x *Bos indicus*, prática conhecida como cruzamento industrial. Essa massiva utilização de sêmen taurino vem aumentando consideravelmente a quantidade de fêmeas cruzadas, sendo que diversas fazendas passaram a recriar essas fêmeas cruzadas e incorporá-las ao rebanho de matrizes.

Haja visto a necessidade de maior compreensão dos fatores que interferem nos índices reprodutivos em novilhas e as possíveis diferentes respostas fisiológicas ao protocolo para sincronização da ovulação entre novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* criadas sob as mesmas condições, delinearam-se os presentes estudos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Fisiologia do Ciclo Estral em bovinos

O desenvolvimento folicular em bovinos ocorre em padrão de ondas. Em cada onda folicular um grupo de folículos pequenos é recrutado e passa por uma fase de desenvolvimento por aproximadamente 3 dias. Este período é denominado “emergência folicular” (GINTHER et al., 1996), sendo o FSH o hormônio responsável pelo recrutamento e crescimento dos folículos nessa fase (GINTHER et al., 1996; ADAMS et al., 1992a; ADAMS et al. 1992b). Após este período de crescimento inicial, apenas um único folículo continua a se desenvolver, denominado “folículo dominante”, e este passa a secretar maiores concentrações de  $17\beta$ -estradiol e inibina, levando a concentração de FSH a níveis basais (MIHM et al., 2002), o que faz com que os outros folículos entrem em processo de atresia. Este processo de seleção do folículo dominante é chamado de “divergência folicular”.

Após a divergência folicular e o estabelecimento da dominância, o folículo dominante passa a se desenvolver estimulado pelo LH (GINTHER et al., 1996). O LH é liberado em forma de pulsos pela hipófise, a frequência desses pulsos é responsável pela manutenção e o tempo de crescimento do folículo dominante (TAFT et al., 1996). Diversos trabalhos demonstraram uma relação inversa entre a concentração circulante de P4 e pulsatilidade de LH (BERGFELD et al., 1996; KOJIMA et al., 1993). Adams et al. (1992a) e Savio et al. (1993) relataram que o tempo de crescimento do folículo dominante pode ser reduzido ou estendido pelo aumento ou decréscimo nas concentrações de progesterona. Kojima et al. (2003) verificaram que a pulsatilidade de LH em vacas com baixa concentração de progesterona (1-3 ng/mL) foi maior comparado as vacas com alta concentração de progesterona (5-9 ng/mL), corroborando Bergfeld et al. (1996), que demonstraram que a frequência de pulso de LH foi maior em vacas com menor (1,3 ng/mL) concentração de progesterona do que em vacas com maior (4,6 ng/mL) progesterona (4,1 pulsos/6h vs 1,3 pulsos/6h, respectivamente).

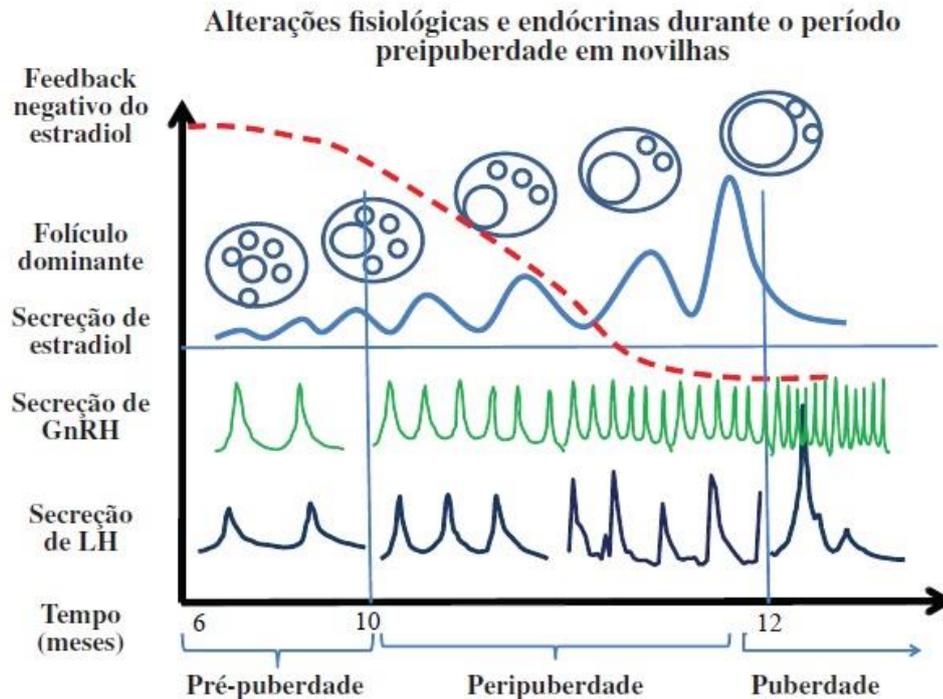
Durante o ciclo estral o corpo lúteo permanece ativo secretando progesterona. Entre os dias 17 e 20, ocorre a secreção de prostaglandina  $F2\alpha$  pelo endométrio uterino, determinando a regressão morfológica e funcional do corpo lúteo (MILVAE et al., 1996). Após a luteólise, as concentrações sanguíneas de progesterona diminuem e ocorre aumento na frequência de pulsos de LH, que estimula a maturação do folículo

dominante, a qual passa a secretar quantidades crescentes de  $17 \beta$ -estradiol (FORTUNE et al., 1988). A queda nas concentrações circulantes de P4 e o aumento nas de E2 são responsáveis pelo comportamento de estro e pelo pico pré-ovulatório de GnRH/LH (ALLRICH 1994). O pico pré-ovulatório de LH é responsável pela ruptura da parede folicular, liberando o óvulo (HAFEZ, 1993), este processo é denominado “ovulação”.

Após a ovulação, as células da teca interna e da granulosa se diferenciam e multiplicam e ocorre intensa proliferação vascular, formando uma densa rede de vasos (DAMBER et al., 1987). As células da teca se modificam, originando as células luteínicas pequenas, enquanto as células da granulosa dão origem às células luteínicas grandes (HANSEL & BLAIR, 1996; MEIDAN et al., 1990). O corpo lúteo torna-se uma estrutura sólida e esférica, altamente vascularizada (ZHENG et al., 1994). O conjunto de transformações que ocorre nas células da teca e da granulosa após a ovulação é denominado luteinização (MURPHY, 2000). No momento da ovulação ocorre um pico de FSH (MIHM et al., 2002; ADAMS et al., 1992a) que estimula a emergência de uma nova onda folicular após 1 a 2 dias (GONG et al., 1996; GINTHER et al., 1996) e inicia a primeira onda folicular do ciclo estral subsequente.

## 2.2. Fisiologia da Puberdade

De acordo com Day e Anderson (1998), o período do nascimento até a puberdade nas novilhas *Bos taurus* pode ser dividido em quatro fases, começando com um período infantil (do nascimento até dois meses de idade), na qual são observados baixos níveis de LH, provavelmente devido a uma baixa resposta da hipófise ao GnRH; Em seguida, há um período de desenvolvimento (dos 2 aos 6 meses de idade), em que há maiores concentrações de gonadotrofinas comparadas ao período infantil. Porém, com o aumento na produção de estrógenos pelas gônadas ocorre uma inibição na liberação de gonadotrofinas (feedback negativo), marcando o início da fase estática (dos 6 aos 10 meses de idade), na qual as concentrações circulantes de LH permanecem baixas até a próxima fase.



**Figura 2** - Características dos eventos que precedem a puberdade em novilhas. Adaptado de Maquivar et al (2009).

O estímulo necessário para a ocorrência da puberdade é o aumento da liberação de GnRH pelo hipotálamo, resultando em maior secreção de LH. Essas alterações ocorrem aproximadamente nos 50 dias que antecedem a puberdade, período denominado peripuberdade (DAY et al., 1984).

Basicamente, para ocorrência da puberdade é necessária uma gradativa diminuição da sensibilidade hipotalâmica ao E2, elevando a liberação de LH, que estimula o crescimento folicular e a produção de estrógeno. O aumento na produção de estrógeno causa secreção de pico de GnRH pelo hipotálamo, estimulando a hipófise à liberação do pico pré-ovulatório de LH, ovulação do folículo dominante e formação do corpo lúteo (EVANS et al., 1994). Diversos autores (BYERLEY et al., 1987; EVANS et al., 1994) relataram a ocorrência de ciclo estral de curta duração após a primeira ovulação em novilhas, ou seja, o corpo lúteo sofre luteólise precocemente antes do décimo primeiro dia do ciclo estral.

### 2.3. Estratégias para antecipar a puberdade

Diversos estudos demonstraram que o momento em que a puberdade ocorre pode ser antecipado. Quadros et al. (2004) utilizando rufiões e Izaard et al. (1982) utilizando urina de touros relataram que as novilhas submetidas aos tratamentos apresentaram

maior taxa de ciclicidade no início da estação de monta. Semelhante resultado foi relatado por Oliveira et al. (2007) e Soares et al. (2008) em novilhas Nelore, sendo que a taxa de prenhez também foi maior nas novilhas bio-estimuladas.

A nutrição é outra estratégia de manejo que pode ser utilizada para antecipar o momento em que a puberdade ocorre. Bezerras desmamadas e submetidas a alto ganho de peso (1,36 Kg/d) apresentaram menor idade à puberdade do que bezerras que foram submetidas a baixo ganho (0,23 Kg/d); (YELICH et al., 1996). Gasser et al. (2006a, 2006b, 2006c, 2006d) realizaram uma série de estudos para investigar o mecanismo pelo qual a nutrição antecipa a puberdade. Em todos os estudos, as novilhas que foram submetidas a maiores ganhos de peso tiveram menor idade a puberdade, conforme demonstrado na tabela 1.

**Tabela 1** - Resumo dos resultados obtidos por Gasser e colaboradores em seus estudos. Adaptado de Day et al. (2009).

Experimento	N	Desmame precoce, dieta rica em concentrados (DPR)		Desmame precoce, dieta controle (DPC)	
		% Puberdade precoce	Idade à puberdade (d)	% Puberdade precoce	Idade à puberdade (d)
EXPT 1	18	89 (8/9)	262 ± 10	0 (0/9)	368 ± 10
EXPT 2	18	100 (9/9)	252 ± 9	56 (5/9)	308 ± 26
EXPT 3	10	80 (4/5)	275 ± 30	0 (0/5)	385 ± 14
EXPT 4	30	67 (10/15)	271 ± 17	20 (3/15)	331 ± 11

O uso de progestinas em novilhas pré-púberes foi associado com uma redução na quantidade de receptores de estradiol no hipotálamo, o que por sua vez desencadeou uma redução na retroalimentação negativa do estradiol na liberação de GnRH, e aumento na liberação de LH. Este é provavelmente o mecanismo responsável pela indução de puberdade nos tratamentos com progestinas (Day et al., 1998).

Anderson et al. (1996) realizaram dois experimentos para avaliar o mecanismo pelo qual a exposição a progestágenos poderia induzir a puberdade. No primeiro estudo, 15 novilhas pré-púberes foram tratadas com um implante auricular a base de norgestomet por 10 dias, e 14 novilhas não receberam nenhum tratamento. Novilhas que receberam o implante tiveram maior frequência de pulsos de LH e taxa de indução de puberdade (85,7%; n = 15) comparado às novilhas controle (0%; n = 14). No segundo estudo foram administrados um (n = 16), três (n = 16) ou nenhum (n = 15), implantes auriculares a base de norgestomet por 10 dias. As novilhas que receberam

implantes tiveram maior taxa de indução de puberdade comparada às novilhas controle. A liberação de LH durante o tratamento foi reduzida nas novilhas que receberam três implantes, porém foi maior que o grupo controle 12 h após a remoção dos implantes. Outros também relataram efeito positivo do norgestomet na indução de puberdade (GONZALES-PADILLA et al., 1975; GRINGS et al., 1998; HALL et al., 1997).

O acetato de melengestrol (MGA), que é um progestágeno oral, também foi avaliado para induzir puberdade. Imwalle et al. (1998) utilizaram MGA por 8 dias para induzir a puberdade. Dez dias após o fim do tratamento todas as novilhas que receberam MGA tornaram-se púberes (n = 8), enquanto no grupo controle apenas quatro novilhas entraram em puberdade (n = 9) corroborando com Patterson et al. (1990), em novilhas pré-púberes *Bos taurus* e *Bos indicus* x *Bos taurus*.

Dispositivos intravaginais de P4 também foram avaliados para induzir puberdade. Rasby et al. (1998) avaliaram o efeito do tratamento com dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (CIDR) por sete dias e a associação deste com BE, 24 a 30 horas após a remoção do dispositivo na indução de puberdade. Novilhas que receberam a combinação de P4 + BE tiveram maior proporção de estro quando comparadas às novilhas dos grupos P4 e controle (68,3 [n = 101] vs 44,1 [n = 102] vs 12% [n = 108], respectivamente).

Baruselli et al (2009) avaliaram o efeito do tratamento com dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 por 10 dias para induzir puberdade. A adição de BE no início ou cipionato de estradiol (ECP) no final do tratamento com P4 não melhorou a indução em comparação as novilhas tratadas apenas com P4. Contudo, em outra avaliação, a adição de ECP ou BE ao final do protocolo melhorou as taxas de indução, em relação ao tratamento apenas com P4.

Claro Junior et al. (2009) utilizaram dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (CIDR) novo ou previamente utilizado por 27 dias (4º uso) durante 12 dias para induzir puberdade em novilhas submetidas a observação de cio e IA por 45 dias. Novilhas tratadas com CIDR tiveram maior taxa de detecção de estro quando comparadas às novilhas Controle, sendo que o diâmetro folicular, o escore uterino no momento da retirada do CIDR e concepção foram maiores para as novilhas tratadas com CIDR de 4º uso comparadas às novilhas tratadas com CIDR novo. Os autores atribuíram o resultado à menor concentração de P4 no CIDR de 4º uso, o que pode ter estimulado

mais a pulsatilidade de LH, levando a um maior crescimento folicular, maiores concentrações circulantes de E2 e melhor escore uterino.

Dando sequência ao protocolo de indução desenvolvido por Claro Junior et al. (2009), Rodrigues et al. (2013) observaram que a adição de eCG e/ou ECP ao final do protocolo de indução por 12 dias com CIDR de 4º uso aumentou a taxas de indução e prenhez em relação às novilhas tratadas apenas com CIDR. Recentemente, este protocolo de indução foi associado a um protocolo de IATF (RODRIGUES et al., 2014). Novilhas pré-púberes submetidas à indução de puberdade receberam um protocolo de IATF em 3 diferentes intervalos, sendo, 10, 12 e 14 dias após o final do protocolo de indução. Novilhas em que o protocolo de IATF iniciou 12 dias após a indução tiveram maior diâmetro folicular no momento da retirada do CIDR e maior taxas de concepção e prenhez (10 dias: 38,2% e 33,7%; 12 dias: 50,4% e 45,5% e 14 dias: 45,6% e 40,6%, respectivamente).

#### 2.4. Sincronização da Ovulação para Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF)

A IA consiste na ferramenta de melhoramento genético que é mais difundida e utilizada atualmente. Através da IA é possível a inserção de genética superior em larga escala, acelerando o processo de melhoramento genético. Entretanto, o sucesso dessa técnica está atrelado à eficiência em detectar as fêmeas em estro. Animais *Bos indicus* são conhecidos por apresentarem estros de curta duração e com alta incidência de cio noturno comparado aos animais *Bos taurus* (PINHEIRO et al., 1998). Esses fatores, associados a possíveis erros de detecção e, principalmente, à alta incidência de anestro no pós-parto são os principais entraves na utilização da IA em vacas (YAVAS & WALTON, 2000).

Com o avanço no conhecimento da fisiologia reprodutiva das fêmeas bovinas, foi possível o desenvolvimento de protocolos hormonais que pudessem sincronizar o estro e/ou o momento da ovulação em um determinado grupo de fêmeas, tornando a IA mais eficiente. A IATF permite que um grupo de animais sejam inseminados em horários pré-determinados e sem a necessidade de observação de estro.

O uso das prostaglandinas para induzir a luteólise e o estro foi uma das primeiras técnicas empregadas para aumentar o número de animais inseminados (HANSEL &

CONVEY, 1983). Entretanto, o sucesso desta técnica depende do momento no ciclo estral em que a fêmea se encontra, visto que a prostaglandina apenas surtirá efeito nos animais de 5 dias (ODDE, 1990). Como alternativa para evitar essa janela de não responsividade e maximizar a eficiência da sincronização com PGF2 $\alpha$ , passaram-se a utilizar 2 aplicações de PGF2 $\alpha$  com intervalo de 14 dias (DAYLEY et al., 1983).

Com a disponibilidade comercial do GnRH, pode-se sincronizar o início da onda folicular por meio da ovulação do folículo dominante (MARTINEZ et al., 1999; MACMILLAN & THATCHER, 1991) e, além disso, tornou-se possível sincronizar a ovulação ao final do protocolo, permitindo a realização da IA em horário pré-determinado e sem a necessidade de observação de cio. Estes conceitos deram origem ao protocolo “Ovsynch”, que consiste na aplicação de GnRH no d -7; PGF2 $\alpha$  no d 0; GnRH no d 2; IATF 16 h após (PURSLEY et al., 1995). Contudo a eficácia do protocolo é dependente da resposta ao GnRH, que sofre influência de acordo com a fase do ciclo estral (MARTINEZ et al., 1999; VASCONCELOS et al., 1999; MOREIRA et al., 2000).

Apesar de ser amplamente utilizado em bovinos leiteiros, os protocolos à base de GnRH não apresentam resultados consistentes quando utilizados em bovinos de corte taurinos, sendo variações associadas principalmente a falhas na sincronização da onda folicular (GEARY et al., 1998). Resultados inconsistentes também foram encontrados em fêmeas zebuínas sincronizadas com protocolos a base de GnRH + PGF2 $\alpha$  (BARROS et al., 2000; BARUSELLI et al., 2002).

Com a associação estrógeno e progesterona, a secreção de FSH e LH é inibida (BÓ et al., 2002; BURKE et al., 1996), fazendo com que os folículos ovários entrem em atresia, independente do estágio do ciclo estral (BÓ et al., 1994; MAPLETOF et al., 2008). Uma vez que o E2 é metabolizado, elimina-se o efeito inibitório e é observado aumento nas concentrações circulantes de FSH (pico de FSH), seguido pela emergência de uma nova onda folicular (MARTÍNEZ et al. 2005; MARTÍNEZ et al. 2007).

Ao final do protocolo de sincronização da ovulação, deve-se promover a luteólise e logo após induzir a ovulação. Uma dose baixa de estrógeno entre 0 e 24 horas após a retirada do implante de progesterona é suficiente para induzir o pico de LH sincronizado. Em estudo conduzido por Meneghetti et al., (2009), tanto o BE quanto o ECP foram eficientes em induzir a ovulação (90,9 % vs. 89,5%) sem alterar a prenhez (51,9% vs. 50,8%) no protocolo a base de E2+P4. Entretanto, considerando que a

utilização do cipionato de estradiol pode ser feita no momento da retirada do implante, este é o indutor de eleição, já que é necessário um manejo a menos.

## 2.5. IATF em Novilhas

No Brasil, os protocolos para sincronização da ovulação a base de P4/E2 no Brasil foram largamente estudados, encontram-se bem estabelecidos (SÁ FILHO et al., 2009; MENEGHETTI et al., 2009) e apresentam resultados satisfatórios quando utilizados em vacas paridas e solteiras. Contudo, em novilhas Nelore os resultados ainda são inconsistentes (SÁ FILHO et al., 2009).

Diversos estudos buscaram alternativas para aumentar a taxa de prenhez e verificar quais são os fatores que comprometem a fertilidade em novilhas Nelore (DIAS et al., 2009; PERES et al., 2009; MARTINS et al., 2014; RODRIGUES et al., 2014). A ausência de folículos com um bom diâmetro ao final do protocolo de IATF (MARTINS et al., 2014) e a quantidade de novilhas pré-púberes no início do protocolo de IATF (RODRIGUES, 2012) são os principais fatores responsáveis por essa variação de resultados.

A quantidade de novilhas pré-púberes no início da estação de monta é um dos fatores que contribuem para taxas de fertilidade insatisfatórias nessa categoria (PERRY, 2016; NOGUEIRA, 2004). Novilhas que não apresentam um corpo lúteo no início do protocolo de IATF ou que não respondem a protocolos de indução apresentam menor prenhez à IATF do que aquelas novilhas que apresentavam CL espontaneamente (SÁ FILHO et al., 2010) ou após protocolos de indução de puberdade (RODRIGUES, 2012).

Dias et al. (2009) avaliaram os efeitos das concentrações de P4 no início e durante protocolo de IATF em novilhas púberes. As concentrações circulantes de P4 não tiveram efeito na fertilidade até o dia 7 do protocolo, sugerindo que se há um efeito da P4, este ocorre após o dia 7, quando a dominância folicular já está estabelecida. Entretanto após a dominância, o folículo passa a ser dependente da liberação de LH para continuar o seu desenvolvimento (GINTHER et al., 1996) e a P4 possui uma relação inversa com a frequência de pulsos de LH (BERGFELD et al., 1996), ou seja, quanto maior a concentração circulante de P4, menor a pulsatilidade de LH. Por outro lado, concentrações subluteais de P4 estimulam a liberação de LH (ADAMS et al., 1992a). Recentemente, Dias (2015) demonstrou que folículos dominantes que

criaram em altas concentrações de progesterona apresentam menor expressão de receptores de LH, bem como menor concentração intrafolicular de estradiol.

No estudo de Dias et al. (2009), os autores avaliaram a utilização de dispositivos intravaginais contendo 1,9 g de P4 (CIDR) previamente utilizados por duas ou 3 vezes, que proporcionam menores concentrações circulantes de P4. De acordo com os autores, o número prévio de utilizações do CIDR interferiu nas taxas de concepção por reduzir o suporte gonadotrófico, reduzindo o crescimento folicular. Entretanto os efeitos negativos da alta concentração de P4 durante o protocolo foram minimizados quando foi utilizado um suporte gonadotrófico exógeno (gonadotrofina coriônica equina; eCG).

Corroborando com os resultados de Dias et al. (2009), Peres et al. (2009) observaram que, em vacas não lactantes, a antecipação da aplicação de PGF2 $\alpha$  em 2 dias reduziu as concentrações circulantes de P4 no dia 9 (retirada do dispositivo intravaginal de P4) e aumentou a taxa de prenhez. Adicionalmente, os autores relataram que nos animais com alta P4 no dia 9, o uso da eCG atenuou os efeitos negativos da alta P4.

Recentemente, Martins et al. (2014) avaliaram o uso de CIDR novo ou previamente utilizado por 18 dias durante 7 ou 9 dias em um protocolo de sincronização de cio. Novilhas que receberam o CIDR de 1º uso apresentaram menor diâmetro folicular já no dia 7, e levaram mais tempo para serem detectadas em estro. Os autores sugeriram que aparentemente o momento do desvio folicular ocorreu um pouco antes do dia 7 e a maior concentração de P4 no CIDR novo foi suficiente para inibir o crescimento folicular.

#### 2.5.1. Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG)

A gonadotrofina coriônica equina (eCG), como atualmente é conhecida, foi descoberta ainda na década de 30, sendo caracterizada como uma glicoproteína presente no soro de éguas prenhes (COLE e HART, 1930) reconhecida pelo seu alto peso molecular. Foi demonstrado em estudos posteriores que a maior produção dessa molécula se dava durante o primeiro trimestre da gestação (MATTERI et al, 1986) pelas células trofoblásticas dos cálices endometriais das éguas (ALLEN E MOOR, 1972).

Pela sua amplitude molecular, possui duas subunidades: alfa ( $\alpha$ ), composta por 96 aminoácidos e beta ( $\beta$ ), composta por 149 aminoácidos (ALLEN E MOOR, 1972) e foi também caracterizada por possuir meia vida longa, cuja extensão chega a 40 horas, podendo ser isolada em soro de animais mesmo após 10 dias da aplicação (PAPKOFF, 1981).

Em estudos subsequentes, pôde-se concluir que a molécula de eCG desempenha função semelhante a de LH e FSH (PAPKOFF, 1981; BRAVO et al., 2006). Boeta e Zarco (2005) quantificaram que a afinidade da molécula de eCG pelos receptores de LH esteja entre 2% a 3%, contudo observaram que, ainda assim, a molécula pode causar a ovulação ou luteinização de folículos quando em concentrações superiores às de LH e, desta forma, há um aumento nas concentrações circulantes de P4 em equinos após elevação das concentrações de eCG.

Apoiados no contexto de que a molécula de eCG poderia constituir uma substituição alternativa ao FSH em protocolos de superestimulação ovariana, alguns autores estudaram a viabilidade dessa aplicação, considerando a vantagem de que a meia vida longa da eCG permitiria uma aplicação única do fármaco (MAPLETOFT et al., 2002). Entretanto, foram observados efeitos negativos relacionados à sua meia vida prolongada, determinando falhas na ovulação ou até mesmo resposta superovulatória excessiva (ELSDEN et al., 1978; MAPLETOFT et al., 2002), além da produção de embriões de baixa qualidade (BOLAND et al., 1978; CRITSER et al., 1978).

Em contrapartida, quando foi inserida como ferramenta em protocolos de IATF, apresentou bons resultados (DIAS et al., 2009; PERES et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2010) e essa alternativa tem permitido alcançar maiores taxas de ovulação e concepção.

## 2.6. Particularidades na fisiologia reprodutiva de fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus* vs *Bos indicus*

Desde que o uso da ultrassonografia ovariana se tornou comum nos animais domésticos, diversos trabalhos têm avaliado as características foliculares das diferentes espécies de fêmeas bovinas. Fêmeas *Bos taurus* e *Bos indicus* são animais com origens diferentes e diferentes graus de interferência humana através do processo de seleção. Animais de origem *Bos taurus* são conhecidos por sua

precocidade e alta produtividade, enquanto bovinos *Bos indicus*, são conhecidos por sua rusticidade e adaptabilidade a regiões tropicais (NOGUEIRA, 2004).

Do ponto de vista fisiológico, novilhas *Bos taurus* atingem a puberdade por volta dos 12 meses de idade, enquanto em novilhas *Bos indicus* a idade reportada à puberdade é ao redor dos 24 meses (FERREL, 1983). Novilhas cruzadas *Bos taurus* x *Bos indicus* geralmente manifestam a puberdade em menor idade do que novilhas *Bos indicus*, porém mais velhas do que novilhas *Bos taurus*, por volta dos 16 meses.

Mezzadra et al. (1993), avaliaram a idade à puberdade em novilhas Brahman, Hereford e novilhas cruzadas Brahman x Hereford, criadas em regime de pastagem. Novilhas cruzadas apresentaram menor idade e peso à puberdade em relação as novilhas Brahman ou Hereford. Recentemente, Ferraz (2016) utilizou novilhas Nelore e cruzadas Nelore x Angus, arraçoadas para dois ganhos de peso (0,5 x 1 kg/dia) em dois diferentes períodos (3 a 7 meses x 7 meses até puberdade), em delineamento fatorial 2x2, e verificaram que as novilhas cruzadas tratadas com a dieta para ganho de 1 kg/dia em qualquer uma das fases apresentaram menor idade a puberdade. Nas novilhas Nelore, não houve efeito dos tratamentos na idade à puberdade, entretanto as novilhas tratadas para ganharem 1 kg/dia durante os dois períodos apresentaram maior taxa de puberdade aos 18 meses.

Em relação à dinâmica folicular, estudos iniciais descrevem uma predominância de duas ondas em animais *Bos taurus* (GINTHER et al., 1989), enquanto que em *Bos indicus* ocorre a predominância de 3 ondas (FIGUEIREDO et al., 1997). Em relação à população folicular nos ovários, animais *Bos taurus* possuem menor contagem de folículos antrais (ALVAREZ et al., 2000; GINTHER et al., 1996) em relação as fêmeas *Bos indicus* (ALVAREZ et al., 2000; BURATINI JR, et al., 2000). O diâmetro do maior folículo no momento da seleção também é diferente entre as raças, sendo de 8 a 9 mm em animais taurinos (GINTHER et al. 1996) e 5,5 a 6 mm em zebuínos (FIGUEIREDO et al. 1997; SARTORELLI et al. 2005; CASTILHO et al. 2007; ERENO 2008; GIMENES et al. 2008). Embora o diâmetro seja diferente no momento do desvio, o tempo entre o início da onda e o momento do desvio é semelhante (2,3 a 2,8 dias); (SARTORELLI et al. 2005; ERENO 2008; GIMENES et al. 2008; GINTHER et al. 1996) O diâmetro do folículo ovulatório também é menor em fêmeas *Bos indicus* (11 a 12 mm); (FIGUEIREDO et al. 1997; SARTORELLI et al. 2005) em relação as das fêmeas *Bos taurus* (16 e 17 cm; GINTHER et al. 1989). Também são relatados maiores diâmetros de CL para animais *Bos taurus* (20-30 mm; GINTHER et al., 1989)

do que para animais *Bos indicus* (17 a 21 mm; SEGERSON et al., 1984; FIGUEIREDO et al., 1997).

Entretanto, são poucos os trabalhos que diretamente comparam os animais *Bos taurus* e *Bos indicus* nas mesmas condições. Uma comparação direta foi realizada entre vacas multíparas em lactação das raças Angus (*Bos taurus* temperado; n = 12), Brahman (*Bos indicus* tropical; n = 12), e Senepol (*Bos taurus* tropical, n = 12), sendo acompanhado um ciclo estral completo (ALVAREZ et al., 2000). Neste estudo, a maioria das vacas Angus e Brahman tiveram duas ondas foliculares durante o ciclo estral (72,7% e 55,6%, respectivamente) e em 70% dos ciclos das vacas Senepol houve três ondas. O número de folículos no início da onda (3 a 5 mm) foi maior nas vacas Brahman (39) em relação às das raças Angus (21) e Senepol (33). Ao compararem Angus e Brahman, Segerson et al. (1984) encontraram maiores concentrações séricas de E2 e P4 nas fêmeas taurinas. Estudos recentes realizados com ambos os grupos genéticos em condições ambientais e nutricionais contemporâneas mostrou que animais *Bos indicus* apresentaram maior número de folículos no dia da emergência da onda em relação aos *Bos taurus* (CARVALHO et al. 2008; GIMENES et al. 2008). Carvalho et al. (2008) sincronizaram a ovulação de novilhas das raças Nelore, Angus, Gir e Holandesa. As fêmeas *Bos indicus* (Nelore e Gir, combinadas) apresentaram  $33,4 \pm 3,2$  folículos ao início da onda folicular, enquanto novilhas *Bos taurus* (Angus e Holandês combinadas) tiveram  $25,4 \pm 2,5$  folículos (P = 0,09). Similarmente, Gimenes et al. (2008), observaram que novilhas da raça Nelore tiveram  $29,7 \pm 3,1$  folículos no momento da emergência da onda e que, novilhas da raça Holandesa apresentaram  $15,0 \pm 2,8$  folículos.

Portanto, dadas as diferenças fisiológicas existentes entre os diferentes grupos genéticos de novilhas e também a rápida e gradativa introdução de animais originados do cruzamento entre *Bos taurus* x *Bos indicus* nos rebanhos comerciais e a escassez de trabalhos científicos que efetivamente comparam os diferentes grupos genéticos de novilhas sob as mesmas condições, são necessários mais estudos comparando estes animais em condições semelhantes às de novilhas Nelore. O entendimento dos fatores que possam interferir no sucesso quanto à utilização de protocolos reprodutivos já estabelecidos na raça Nelore, potencialmente impacta a eficiência da atividade pecuária.

Esta tese resultou em três artigos, redigidos de acordo com as normas da Revista Theriogenology.

No capítulo 2 é apresentado o trabalho intitulado “**Avaliação da IATF em novilhas Bos indicus e Bos taurus x Bos indicus púberes ou submetidas à indução de puberdade**”.

No capítulo 3 é apresentado o trabalho intitulado “**Desempenho reprodutivo em novilhas Bos indicus e Bos taurus x Bos indicus aos 12 meses de idade**”.

No capítulo 4 é apresentado o trabalho intitulado “**Influencia da raça, concentração de progesterona circulante e tratamento com eCG em novilhas Bos indicus e Bos taurus x Bos indicus submetidas a protocolos de sincronização da ovulação**”.

### 3. Referências Bibliográficas

ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; GINTHER, O. J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 95, n. 2 p. 627-640, 1992a.

ADAMS, G.P., MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.H. Association between surges of follicle stimulating and the emergence of follicular waves in heifers. **J. Reprod. Fertil.**, v. 94, p. 177-188, 1992b.

ALLEN, W.R., e MOOR, R.M. The origin of the equine endometrial cups. I. Production of PMSG by fetal trophoblast cells. **J Reprod Fertil.** v. 29, p. 313-6, 1972.

ALLRICH, R.D. Endocrine and neural control of estrus in dairy cows. **Journal of Dairy Science.** v. 77, p. 2738-2744, 1994.

ALVAREZ, P., SPICER, L.J., CHASE, C.C., PAYTON, M.E., HAMILTON, T.D., STEWART, R.E., HAMMOND, A.C., OLSON, T.A., WETTEMANN, R.P. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **J Anim Sci.** v. 78, p. 1291-1302, 2000.

ANDERSON, L. H., McDOWELL, C. M., DAY, M. L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v. 54, n. 54, p. 1025 – 31, 1996.

BARROS, C.M., MOREIRA, M.B., FIGUEIREDO, R.A., TEIXEIRA, A.B., TRINCA, L.A., Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and estradiol. **Theriogenology.** v. 53, p- 1121-1134, 2000.

BARUSELLI P., SALES J., CREPALDI G., SÁ FILHO M. Induccion de ciclicidad en vaquillonas cebu y sus cruas. **VIII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL - IRAC.** Cordoba, p. 1-13, 2009.

BARUSELLI, P.S., MARQUES, M.D.O., CARVALHO N. A.T. MADUREIRA, E.H., CAMOS FILHO, E.P. Effect of different treatments for timed artificial insemination on the reproductive efficiency in lactating beef cows. **Revista Brasileira de Reprodução Animal.** V. 26, p. 218-221, 2002.

BASTOS, M.R. Diferenças reprodutivas entre *Bos taurus* e *Bos indicus*. São Paulo, 2012. 124f. Tese (doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2012.

BERGFELD, E. G. M. et al. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 $\beta$ -estradiol in bovine females. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 546 - 553, 1996.

BÓ, G., CACCIA, M., MARTINEZ, M., ADAMS, G., PIERSON, R., MAPLETOFT, R. The use of estradiol-17 $\beta$  and progestogen treatment for the control of follicular wave dynamics in beef cattle. **Theriogenology**. v. 40, p.165, 1994.

BÓ, G.A., BARUSELLI, P.S., MORENO, D., CUTAIA, L., CACCIA, M., TRIBULO, R., TRIBULO, H., MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology**. v. 57, p. 53-72, 2002.

BOETA, M., ZARCO, L. Progesterone and equine chorionic gonadotropin concentrations around the time of pregnancy loss in Mare impregnated by donkeys or stallions. **Journal of Equine Veterinary Science**. v. 25, p. 531-538, 2005.

BOLAND, M. D., CRODBY, T.F., GORDON, I. Morphological normality of cattle embryos following superovulation using PMSG. **Theriogenology**. v. 10, p. 175-180, 1978.

BRAVO, P. W., TSUTSUI, T., LASLEY, B.L. Dose response to equine chorionic gonadotropin and subsequent ovulation in llamas: **Small Ruminant Research**. v. 18, p. 157-163, 2006.

BURATINI, J., PRICE, C., VISINTIN, J., BO, G. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**. v. 54, p. 421-31, 2000.

BURKE, C.R., MACMILLAN, K.L., BOLAND, M.P. Oestradiol potentiates a prolonged progesterone-induced suppression of LH release in ovariectomised cows. **Animal Reproduction Science**. v. 45, p. 13-28, 19996.

BYERLEY, D. J., STAIGMILLER, R. B., BERARDINELI, J. G., SHORT, R. E. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. **Journal of Animal Science**, v. 65, p. 645 – 650, 1987.

CARVALHO, J.B., CARVALHO, N.A., 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, p. 167-175, 2008.

CASTILHO, C., GARCIA, J.M., RENESTO, A., NOGUEIRA, G.P., BRITO, L.F. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Anim Reprod Sci.** v. 98, p. 189-196, 2007.

CLARO JUNIOR I., Peres R. F. G., Aono F. H., Day M. L., Vasconcelos J. L. M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology.** v. 74, p. 903-11, 2010.

COLE, H.H., HART, G.H. Potency of blood serum of mares in progressive stages of pregnancy in effecting the sexual maturity of the immature rat. **American Journal of Physiology,** v. 93, p. 57-58, 1930.

CRITSER, J.K., ROWE, R.F., DEL CAMPO, M.R., GINTHER, O.J. Embryo transfer in cattle: factor affecting superovulatory response, number of transferable embryos, and length of post-treatment estrous cycle. **Theriogenology.** v. 13, p. 397-406, 1978.

DAMBER, J. E., CAJANDER, S., GAFVELS, M., SELSTAM, G. Blood flow changes and vascular appearance in preovulatory follicles and corpora lutea in immature pregnant mare's serum gonadotropin-treated rats. **Biol. Reprod.,** v.37, p.651-658, 1987.

DAY, M. L., ANDERSON, L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal of Animal Science,** v. 76, p. 1 – 15, 1998.

DAY, M. L., IMAKAWA, K., GARCIA-WINDER, M., ZALESKY, D. D., SCHANBACHER, B. D., KITOK, R. J., KINDER, J. E. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. **Biology of Reproduction,** v. 31, p. 332 – 341, 1984.

DAY, M. L., IMAKAWA, K., ZALESKY, D. D., KITOK, R. J., KINDER, J. E. Effects of restriction of dietary energy intake during the prepubertal period on secretion of luteinizing hormone and the responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone in heifers. **Journal of Animal Science,** v. 62, p. 1641 – 1648, 1986.

DAYLE, R.A., JAMES, R.E., ISNKEEP, E.K. Synchronization of estrus in dairy heifers with or without estradiol benzoate. **Journal of Dairy Science.** v. 66, p. 881-886, 1983.

DIAS C.C., WECHSLER F.S., DAY M.L., VASCONCELOS J.L.M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin

F(2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**. V. 72, p. 378-85, 2009.

DIAS, H.P. Efeito da progesterona na expressão do RNAm do receptor de LH e enzimas esteroidogênicas reguladoras do desenvolvimento folicular em células da granulosa de novilhas Nelore. São Paulo, 2015. 69f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2015.

ELSDEN, R. P., NELSON, L.D., SEIDEL, G.E. Superovulating cows with FSH and PMSG. **Theriogenology**. v. 9, p. 529-534, 1978.

ERENO R.L. Expressão gênica das isoformas do receptor do hormônio luteinizante (LHR) em células da granulosa, antes, durante e após o desvio folicular em novilhas. São Paulo, 2008. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil, 2008.

EVANS, A. C. O., ADAMS, G. P., RAWLINGS, N. C. Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, p. 187 – 194, 1994.

FERRAZ, M.V.C. Efeito da nutrição na puberdade de novilhas Nelore e Cruzadas. São Paulo, 2016. Tese (doutorado). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

FERRELL C. L. Effects of post-weaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. **Journal of Animal Science**. v. 55, p.1272 – 1283, 1982.

FIGUEIREDO, R., BARROS, C., PINHEIRO, O., SOLER, J. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**. v. 47, p. 1489-505, 1997.

FORTUNE, J. E.; SIROIS J.; QUIRK, S. M. The growth and differentiation of ovarian follicular during the bovine estrous cycle. **Theriogenology**, v. 29, p. 95-109, 1988.

GASSER C. L., GRUM D. E., MUSSARD M. L., FLUHARTY F. L., KINDER J. E., DAY M. L. Induction of precocious puberty in heifers I: enhanced secretion of Luteinizing Hormone. **Journal of Animal Science**. 84:2035- 41, 2006a.

GASSER C.L., BURKE C.R., MUSSARD M.L., BEHLKE E.J., GRUM D.E., KINDER J.E., DAY M.L. Induction of precocious puberty in heifers II: Advanced ovarian follicular development. **Journal of Animal Science**. 84: 2042 – 2049, 2006b

GASSER C.L., BRIDGES G.A., MUSSARD M.L., GRUM D.E., KINDER J.E., DAY M.L. Induction of precocious puberty in heifers III: Hastened of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. **Journal of Animal Science**. 84: 2050 – 2056, 2006c.

GASSER C.L., BEHLKE E.J., GRUM D.E., DAY M.L. Effect of timing of feeding high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. **Journal of Animal Science**. 84: 3118 – 3122, 2006d.

GEARY, T.W., WHITTIER, J.C., DOWNING, E.R., LEFEVER, D.G., SILCOX, R.W., HOLLAND, M.D., NETT, T.M., NISWENDER, G.D. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate-B or the ovsynch protocol. **Journal of Animal Science**. v. 76, p. 1523-1527, 1998.

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

GINTHER, O. J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187-1994, 1996.

GINTHER, O.J., KASTELIC, J.P., KNOPF, L. Intraovarian relationships among dominant and subordinate follicles and the corpus luteum in heifers. **Theriogenology**. v. 32, p. 787-95, 1989.

GONG, J.G.; BRAMLEY, T.A.; PETERS A.R.; WEBB, R. Effects of chronic treatment with a potent gonadotropin-releasing hormone against on peripheral concentrations of FHS and LH and ovarian function in heifers. *L. Reprod. Fertil.* v. 105, p. 263-270, 1995.

GONZALEZ-PADILLA, E., RUIZ, R., LEFEVER, D., DENHAM, A., WILTBANK, J. N. Puberty in beef heifers III. Induction of fertile estrus. **Journal of Animal Science**, v. 40, p. 1110 – 1118, 1975.

GRINGS, E., EHALL, J. B., BELLOWS, R. A., SHORT, R. E., STAIGMILLER, R. B. Effect of nutritional management, trace mineral supplementation, and norgestomet

implant on attainment of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2177 – 2181, 1998.

HAFEZ, E.S.E. *Reproduction Farm Animal*. 6 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. P. 573.

HALL, J. B., STAIGMILLER, R. B., SHORT, R. E., BELLOWS, R. A., MACNEIL, M. D., BELLOWS, S. E. Effect of age and pattern of gain on induction of puberty with a progestin in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 1606 – 1611, 1997.

HANSEL, W., BLAIR, R.M. Bovine corpus luteum: a historic overview and implications for future research. **Theriogenology**, v.45, p.1267-1294, 1996.

HANSEL, W., CONVEY, E.M. Physiology of the estrus cycle. **Journal of Animal Science**. v. 57, supp1.2, p. 404-23, 1983.

IMWALLE, D. B., PATTERSON, D. J., SCHILLO, K. K. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. **Biology of Reproduction**, v. 58, p. 1432 – 1436, 1998.

IZAARD, M. K., VANDENBERGH, J. G. The effects of bull urine on puberty and calving date in crossbred beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 55, n. 5, p. 1160 – 68, 1982.

KOJIMA, F. N. et al. Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. **Animal Reproduction Science**, v. 77, p. 187 - 211, 2003.

MACMILLAN, K.L., THATCHER, W.W. Effects of an agonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle. **Biology of Reproduction**. V. 45, p. 883-889,1991.

MAPLETOFT, R., BÓ, G., ADAMS, G. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: Past, present and future. In: **3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, pp. 15-25, Londrina, Paraná, Brasil, 2008.

MAPLETOFT, R.J., STEWARD, K.B., ADAMS, G.P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reprod Nutr Dev**. v. 42, p. 601-11, 2002.

- MAQUIVAR, M., DAY M. L. Estratégias nutricionais e hormonais para induzir a puberdade e seu impacto na fertilidade. In: **XV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de bovinos**, Uberlândia, 2011.
- MARTINEZ, M.F., ADAMS, G.P., BERGFELT, D.R., KASTELIC, J.P., MAPRETOFT, R.J. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**. v. 57, p. 23-33, 1999.
- MARTÍNEZ, M.F., KASTELIC, J.P., BÓ, G.A., CACCIA M., MAPLETOFT, R.J. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Anim Reprod Sci**. v. 86, p. 37-52, 2005.
- MARTÍNEZ, M.F., KASTELIC, J.P., COLAZO, M.G., MAPLETOFT, R.J. Effects of estradiol on gonadotrophin release, estrus and ovulation in CIDR-treated beef cattle. **Domest Anim Endocrinol**. v. 33, p. 77-90, 2007.
- MARTINS, T., PERES, R.F.G., RODRIGUES, A.D.P., POHLER, K.G., PEREIRA, M.H.C., DAY, M.L., VASCONCELOS, J.L.M. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of artificial insemination, and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized artificial insemination in postpubertal Nellore heifers. **Theriogenology**. v. 8, p. 446-453, 2014.
- MATTERI, R.L., PAPKOFF, H., MURTHY, H.N.S., ROSER, J.F., CHANG, Y.S. Comparison of the properties of highly purified equine chorionic gonadotropin isolated from commercial concentrates of pregnant mare serum and endometrial cups. **Domestic Animal Endocrinology**. p. 39-48, 1986.
- MEIDAN, R., GIRSH, E., BLUM, O., ABERDAM, E., In vitro differentiation of bovine theca and granulosa cells into small and large luteal-like cells: morphological and functional characteristics. **Biol. Reprod.**, v.43, p.913-921, 1990.
- MENEGHETTI, M. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cattle: I. Basis for development of protocols. **Theriogenology**. v. 72, p. 179 – 189, 2009.
- MEZZADRA, C., HOMSE, A., SAMPEDRO, D., ALBERIO, R. Pubertal traits and seasonal variation of the sexual activity in Brahman, Hereford and crossbred heifers. **Theriogenology**. v. 40, p. 987-996, 1993.
- MIHM, M.; CROWE, M. A.; KNIGHT, P. G.; AUSTIN, E. J. Follicle wave growth in cattle. **Reprod. Dom. Ani.**, v. 37, p.191–200, 2002.

- MILVAE, R.A., HINCKLEY, S.T., CARLSON, J.C. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. **Theriogenology**, v.45, p.1327-1349, 1996.
- MOREIRA, F., DE LA SOLTA, R.L., DIAZ, T., THATCHER, W. W. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **Journal of Animal Science**. v. 78, p. 1568-1576, 2000.
- MURPHY, B.D. Models of luteinization. **Biol. Reprod.**, v.63, p.2-11, 2000.
- NOGUEIRA, G.P. Puberty in South America *Bos indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82 – 83, p. 361 – 372, 2004.
- ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**. v. 68, p. 817-830, 1990.
- OLIVEIRA, C. M. G., FILHO, B. D. O., GAMBARINI, M. L., VIU, M. A. O., LOPES, D. T., SOUSA, A. P. F. Effects of biostimulation and nutritional supplementation on pubertal age and pregnancy rates of Nelore heifers (*Bos indicus*) in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, 2007.
- PAPKOFF, H. Variations in the properties of equine chorionic gonadotropin.: **Theriogenology**. v. 15, p. 1-11, 1981.
- PATTERSON, D. J., CORAH, L. R., BRETHOUR, J. R. Response of prepubertal *Bos taurus* and *Bos indicus* X *Bos taurus* heifers to melengestrol acetate with or without gonadotropin-releasing hormone. **Theriogenology**, v. 33, p. 661 – 668,1990.
- PERES R. F.G., CLARO JR 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, p. 681-9, 2009.
- PERY, G. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. **Theriogenology**. v. 86, p. 373-378, 2016.
- PINHEIRO, O., BARROS, C.M., FIGUEIREDO, R.L., do VALLE E., ENCARNAÇÃO R., PADOVANI, C. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2 alpha or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**. v. 49, p. 667-681, 1998.
- PURSLEY, J.R., MEE, M.O., WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 $\alpha$  and GnRH. **Theriogenology**. v. 44, p. 915-923, 1995.

- QUADROS, S. A. F., LOBATO, J. F. P. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 679 – 683, 2004.
- RASBY, R. J., DAY, M. L., JOHNSON, S. K., KINDER, J. E., LYNCH, J. M., SHORT, R. E., WETTEMANN, R. P., HAFS, H. D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, p. 55 - 63, 1998.
- RODRIGUES, A.D.P. Estratégias hormonais para aumentar a taxa de prenhez em novilhas Nelore pré-púberes. São Paulo, 2012. 82f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2012.
- RODRIGUES, A.D.P., PERES, R.F.G., LEMES, A.L., MARTINS, T., PEREIRA, M.H.C., CARVALHO, E.R., DAY, M.L., VASCONCELOS, J.L.M. Effect of interval from induction of puberty to initiation of a timed AI protocol on pregnancy rate in Nelore heifers. **Theriogenology**. v. 82, p. 760-766, 2014.
- RODRIGUES, A.D.P., PERES, R.F.G., LEMES, A.P., MARTINS, T., PEREIRA M.H.C., DAY, M.L., VASCONCELOS, J.L.M. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. **Theriogenology**. v. 79, p. 135-141, 2013.
- RODRIGUES, H.D., KINDER, J.E., FITZPATRICK, L.A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. **Biology of reproduction**. v. 66, p. 603-609, 2002.
- SÁ FILHO, M.F., TORRES-JÚNIOR, J.R.S., PENTEADO, L., GIMENES, L.U., FERREIRA, R.M., AYRES, H., CASTRO E PAULA, L.A., SALES, J.N.S., BARUSELLI, P.S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**. v. 118, p. 182-187, 2010.
- SÁ FILHO, O.G., MENEGHETTI, M., PERES, R.F.G., LAMB, G.C., VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**. v. 72, p. 210-218, 2009.
- SARTORELLI, E., CARVALHO, L., BERGFELT, D., GINTHER, O.J., BARROS, C.M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**. v. 63, p. 2382-2394, 2005.

SAVIO, J. D. et al. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle.

**Journal Reproduction and Fertility**, v. 98, p. 77 - 84, 1993.

SEGERSON, E.C., HANSEN, T.R., LIBBY, D.W., RANDEL, R.D., GETZ, W.R. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. **J Anim Sci**. v. 59, p. 1026-1046, 1984.

SCOT CONSULTORIA. RENTABILIDADE EM 2015: mais um ano do dólar. 2015.

Disponível

em:

<<https://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/42501/rentabilidades-em-2015:-mais-um-ano-do-dolar.htm>> Acesso em 01/06/2015.

SOARES, A. F. C., FAGUNDES, N. S., NASCIMENTO, M. R. B. M., TAVARES, M., JACOMINI, J. O. Influência da bioestimulação sobre as características ovarianas e a taxa de prenhez em novilhas Nelore. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 4, p. 834 - 838, 2008.

TAFT, R.; AHMAD N.; INSKEEP, E. K. Exogenous pulses of luteinizing hormone cause persistence of the largest bovine ovarian follicle. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2985-2991, 1996.

VASCONCELOS, J.L.M., SILCOX, R.W., ROSA, G.J.M., PURSLEY, J.R., WILTBANK, M.C. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**. v. 52, p. 1067-1078, 1999.

WETTEMANN, R. P., CASTREE, J. W. Immunization of heifers against gonadotropin releasing hormone delays puberty and causes the cessation of estrous cycles. **Animal Reproduction Science**., v. 36, p. 49 – 59, 1994.

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

YELICH, J. V., WETTERMANN, R. P., MARSTON, T. T., SPICER, L. J. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. **Dom. Anim. Endocrinol.**, v. 13, n. 4, p. 325 – 338, 1996.

ZHENG, J., FRICKE, P. M., REYNOLDS, L. P., REDMER, D. A. Evaluation of growth, cell proliferation and cell death in bovine corpora lutea throughout the estrous cycle. **Biol. Reprod.**, v.51, p.623-632, 1994.

## **CAPÍTULO 2**

### **“Experimento 1”**

**Avaliação da IATF em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* púberes ou submetidas à indução de puberdade**

## **Avaliação da IATF em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* púberes ou submetidas à indução de puberdade**

### **RESUMO**

Objetivou-se avaliar a estratégia reprodutiva proposta por Rodrigues et al. (2014) em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* e comparar a fertilidade das novilhas que foram tratadas com o protocolo em relação à de novilhas que já estavam previamente ciclando. Foram utilizadas 2.562 novilhas (*Bos indicus*, BI; n = 1.291; *Bos taurus* x *Bos indicus*, CR; n = 1.271) entre 23 e 27 meses de idade, localizadas em duas fazendas comerciais. Foram consideradas pré-púberes novilhas com ausência de CL em duas avaliações ultrassonográficas (US; Aloka SSD-500) com dez dias de intervalo. As novilhas pré-púberes e 1/3 das novilhas púberes receberam no Dia -24 um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (CIDR<sup>®</sup>) e o restante das novilhas púberes não receberam nenhum tratamento. No Dia -12 o dispositivo foi removido e as novilhas tratadas com 0,6 mg de cipionato de estradiol (0,3 mL, E.C.P.<sup>®</sup>). No Dia 0, as novilhas receberam um CIDR previamente utilizado por duas 2 vezes (nove dias cada) e 2,0 mg de benzoato de estradiol (2,0 mL, Gonadiol<sup>®</sup>). No Dia 9 todas as novilhas receberam tratamento com 12,5 mg de dinoprost trometamine (PGF, 2,5 mL, Lutalyse<sup>®</sup>) e 0,3 mL de E.C.P.<sup>®</sup> e o CIDR<sup>®</sup> foi retirado. A IATF foi realizada 48 horas após a remoção do CIDR<sup>®</sup>, no Dia 11. O restante das novilhas púberes recebeu o mesmo tratamento descrito acima, no Dia 0, com o tratamento de PGF ocorrendo no Dia 7. No Dia 0 do protocolo de IATF, as novilhas pré-púberes foram avaliadas por ultrassonografia para determinar a resposta ao protocolo de indução formando assim 4 grupos experimentais: 1) Novilhas Púberes (Controle); 2) Novilhas Púberes Induzidas (NP-Ind); 3) Novilhas Pré-púberes que responderam a indução (NPP-Ind) e 4) Novilhas Pré-púberes que não responderam a indução (NPP). Os dados foram analisados pelo PROC GLIMMIX. Uma maior porcentagem de novilhas BI estavam pré-púberes no início do experimento comparadas as novilhas do grupo CR (74,57% vs. 65,85%, respectivamente). A taxa de indução não foi diferente entre novilhas BI e novilhas CR (57,59% vs. 60,06%, respectivamente). A raça interferiu na prenhez à IATF na Fazenda 1 (BI: 40,14% e CR: 47,92%), mas não interferiu na Fazenda 2 (BI: 43,65% e CR: 45,77%). Novilhas NPP (Fazenda 1: 32% e Fazenda 2: 17%) tiveram menor taxa de prenhez à IATF do que novilhas Controle (Fazenda 1: 45% e Fazenda

2: 51%), novilhas NP-Ind (Fazenda 1: 46% e Fazenda 2: 53%) e novilhas NPP-Ind (Fazenda 1: 53% e Fazenda 2: 58%). Novilhas pré-púberes que responderam ao protocolo de indução de puberdade tiveram a mesma taxa de prenhez à IATF do que novilhas que já estavam ciclando no início da estação de monta. Além disso, independente de raça, novilhas que já estavam ciclando podem ser submetidas ao protocolo de indução + IATF sem alterar a prenhez.

Palavras-chaves: Bos indicus, Bos taurus x Bos indicus, IATF, Puberdade.

**Evaluation of TAI program in *Bos indicus* and *Bos taurus* x *Bos indicus* pubertal heifers or submitted to puberty induction**

**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the reproductive strategy proposed by Rodrigues et al. (2014) in *Bos indicus* and *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers and to compare the fertility of heifers that were treated with protocol to those that were already cycling. 2,562 heifers were used (*Bos indicus*, BI; n = 1,291; *Bos taurus* x *Bos indicus*, CR; n = 1,271) between 23 to 27 months old, located in two commercial farms. Heifers were considered prepubertal when the CL was absent in two consecutive ultra-sonographic evaluations (US; Aloka SSD-500) with a 10-days interval. On Day -24 prepubertal heifers and 1/3 of the pubertal heifers received an intravaginal device containing 1.9 g of P4 (CIDR<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) whereas the remained pubertal heifers did not receive any treatment. On Day -12 the device was removed and heifers were treated with 0.6 mg of estradiol cypionate (0.3 mL, E.C.P.<sup>®</sup>, Zoetis). On Day 0 heifers received a CIDR that has been previously used for two times (9 days each) and 2.0 mg of estradiol benzoate (2.0 mL, Gonadiol<sup>®</sup>, Zoetis). On Day 9 heifers receive a treatment with 12.5 mg of dinoprost tromethamine (PGF, 2.5 mL, Lutalyse<sup>®</sup>, Zoetis), 0.3 mL of E.C.P.<sup>®</sup>, and CIDR was removed. The TAI was performed on Day 11, 48 hours after CIDR withdrawal. The remaining pubertal heifers receive the same protocol describe above, with the PGF treatment on Day 7. On Day 0 of the TAI protocol, prepubertal heifers were evaluated by US to determine the response to the puberty induction protocol, this way, 4 experimental groups were formed: 1) Pubertal heifers (Control); 2) Induced Pubertal heifers (NP-Ind); 3) Prepubertal Heifers that responded to induction (NPP-Ind) and 4) Prepubertal heifers that did not respond to induction. Data were analyzed using Proc GLIMMIX from SAS, significance was set when  $P \leq 0.05$ . A greater number of BI heifers were pubertal at the beginning of the experimental period than CR heifers (74.57% vs. 65.85% respectively). The induction rate did not differ between BI and CR heifers (57.59% vs. 60.06%, respectively). Breed of the heifers impacted pregnancy rate to TAI in Farm 1 (BI: 40,14% and CR 47.92%), but not in Farm 2 (BI: 43.65% and CR: 45.77%). NPP heifers (Farm 1: 32% and Farm 2: 17%) had lower pregnancy rate when compared to Control (Farm 1: 45% and Farm 2: 51%), NP-Ind (Farm 1: 46% and Farm 2: 53%). and NPP-Ind heifers (Farm 1: 53% and Farm 2:

58%). Prepubertal heifers that responded to the induction protocol had the same fertility to TAI as heifers that were already cycling at the beginning of breeding season, besides that, heifers that were already cycling can be treated with the induction + TAI protocol with no decrease in pregnancy.

Keywords: *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus*, Puberty, TAI.

## 1. Introdução

Novilhas cobertas no primeiro estro espontâneo possuem menor fertilidade em comparação à novilhas cobertas em seu terceiro estro [1]. Tratamentos para induzir a puberdade em novilhas foram amplamente descritos na literatura [2-9], utilizando acetato de melengestrol (MGA; [3]), estradiol [4], prostaglandina [5] e dispositivos de progesterona [6-9] tendo se mostrado efetivos em induzir a primeira ovulação em novilhas pré-púberes.

Claro Junior et al. [7] relataram que novilhas pré-púberes induzidas com dispositivos intravaginais de progesterona previamente utilizados (CIDR; 4º uso) por 12 dias tiveram a mesma fertilidade de novilhas púberes em programas de detecção de estro e inseminação artificial. Além disso, a adição de um tratamento com cipionato de estradiol (ECP) e/ou gonadotrofina coriônica equina (eCG) ao final do tratamento com CIDR aumentou a quantidade de novilhas detectadas em estro e ovularam [8].

Recentemente, Rodrigues et al. [9] associaram o protocolo de indução de puberdade a um protocolo de IATF, avaliando três diferentes intervalos entre final do protocolo de indução e início do protocolo de IATF (10, 12 ou 14 dias). As novilhas que foram sincronizadas com intervalo de 12 ou 14 dias apresentaram maior prenhez do que aquelas com intervalo de 10 dias entre a indução e a IATF. Entretanto não foram comparadas novilhas pré-púberes induzidas a novilhas que já estavam previamente ciclando.

O presente estudo foi delineado para avaliar o protocolo proposto por Rodrigues et al. [9] em novilhas pré-púberes e púberes. A hipótese do estudo é que novilhas púberes e pré-púberes que responderem ao protocolo de indução terão a mesma taxa de prenhes das novilhas púberes submetidas ao protocolo de IATF padrão, independente do grupo genético.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Animais e localidade

Um total de 1.291 novilhas *Bos indicus* (BI; Fazenda 1 = 438; Fazenda 2 = 853) com ECC médio de 2,85 (1 = emaciada e 5 = obesa; [10]), entre 23 a 27 meses de idade e 1.271 novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR; Fazenda 1 = 571; Fazenda 2 =

700), com ECC médio de 2,92 entre 23 a 27 meses de idade de duas fazendas comerciais foram utilizadas no estudo. Ambas as fazendas estão situadas na região centro-oeste, no estado de Goiás, sendo a fazenda 1 localizada no município de Amaralina e a fazenda 2 no município de São Miguel do Araguaia. As novilhas foram mantidas em pastos de *Brachiara brizantha* com acesso irrestrito à água e sal mineral. O experimento foi conduzido entre janeiro e maio de 2012.

## 2.2. *Delineamento Experimental*

No início do experimento, as novilhas foram avaliadas por duas vezes consecutivas em um intervalo de dez dias por meio de exame ovariano ultrassonográfico para determinar a presença de CL. Novilhas não detectadas com CL em ambas as avaliações foram consideradas como pré-púberes e novilhas detectadas com CL em pelo menos 1 avaliação foram consideradas púberes. No Dia -24 todas as novilhas pré-púberes e aproximadamente 1/3 das novilhas púberes receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (CIDR<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) e o restante das novilhas púberes não recebeu nenhum tratamento. No Dia -12, o dispositivo foi removido e as novilhas tratadas com 0,6 mg de cipionato de estradiol (0,3 mL, E.C.P.<sup>®</sup>, Zoetis). No Dia 0, todas as novilhas receberam um CIDR previamente utilizado por duas 2 vezes (nove dias cada uso) e 2,0 mg de benzoato de estradiol (2,0 mL, Gonadiol<sup>®</sup>, Zoetis). No Dia 9, todas as novilhas receberam tratamento com 12,5 mg de dinoprost trometamina (PGF; 2,5 mL, Lutalyse<sup>®</sup>, Zoetis) e 0,3 mL de E.C.P.<sup>®</sup> e o CIDR<sup>®</sup> foi retirado. A IATF foi realizada 48 horas após a remoção do dispositivo do CIDR<sup>®</sup> no Dia 11. O restante das novilhas púberes recebeu o mesmo tratamento descrito acima, no Dia 0, com o tratamento de PGF ocorrendo no Dia 7 (Figura 1).

## 2.3. *Avaliações Ultrassonográficas*

As novilhas foram submetidas a avaliações ultrassonográficas (Aloka SSD-500; transdutor linear de 7,5 mHz; Aloka, Tóquio, Japão) nos Dias -34, -24 (todas as novilhas) e 0 (apenas novilhas induzidas) para avaliar a presença de CL e para o diagnóstico de gestação realizado 30 dias após a IATF no Dia 41.

#### 2.4. Grupos Experimentais

No Dia 0, início do protocolo de IATF, as novilhas pré-púberes foram avaliadas por US para determinar a resposta ao protocolo de indução (presença de CL), formando desta forma 4 grupos experimentais:

- 1- Novilhas Púberes (Controle)
- 2- Novilhas Púberes Induzidas (NP-Ind)
- 3- Novilhas Pré-púberes que responderam a indução (NPP-Ind)
- 4- Novilhas Pré-púberes que não responderam a indução (NPP)

#### 2.5. Análise Estatística

O experimento foi analisado como um delineamento completamente casualizado utilizando o software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

As variáveis foram analisadas utilizando o procedimento GLIMMIX. A taxa de indução de puberdade foi determinada pela quantidade de novilhas pré-púberes detectadas com CL no Dia 0, dividida pela quantidade de novilhas pré-púberes tratadas com o protocolo de indução. Foram incluídos no modelo os efeitos de fazenda, grupo genético (*Bos indicus*; *Bos taurus* x *Bos indicus*) e ECC.

A taxa de prenhez foi determinada pela quantidade de novilhas prenhes dividida pela quantidade de novilhas inseminadas. Foram incluídos no modelo os efeitos de fazenda, grupo genético (*Bos indicus*; *Bos taurus* x *Bos indicus*), grupo experimental, ECC, sêmen, inseminador e devidas interações.

Todos os resultados foram reportados com média dos quadrados mínimos e diferenças foram consideradas significantes quando  $P \leq 0,05$ , enquanto tendências foram consideradas quando  $0,05 < P \leq 0,1$ .

### 3. Resultados

A proporção de novilhas pré-púberes no início do experimento tendeu ( $P < 0,10$ ) a ser maior na fazenda 1 (84,24%) do que na fazenda 2 (56,17%). Novilhas BI tinham maior quantidade de novilhas pré-púberes no início do experimento do que novilhas CR (74,57 vs. 65,85 % para novilhas BI e CR, respectivamente). Houve interação entre raça e fazenda (Figura 2) e efeito de fazenda para a taxa de indução. A taxa de

indução foi maior ( $P < 0,05$ ) na Fazenda 1 (63,82%) do que na Fazenda 2 (54,36), sendo a média das raças, 60,06% para CR e 57,59% para BI.

Foi detectado interação entre fazenda e raça na taxa de prenhez a IATF, por este motivo os resultados para taxa de prenhez a IATF serão mostrados separadamente em cada fazenda. Na fazenda 1 houve efeito da raça na taxa de prenhez, novilhas CR tiveram maior taxa de prenhez a IATF do que novilhas BI (47,92 vs. 40,14, respectivamente). Novilhas NPP tiveram menor taxa de prenhez a IATF do que novilhas Controle, NP-Ind e NPP-Ind (Figura 3). Na fazenda 2 não houve efeito da raça na taxa de prenhez a IATF (45,77 % para novilhas CR e 43,65% para novilhas BI). Em relação aos tratamentos, novilhas NPP tiveram menor taxa de prenhez a IATF do que novilhas Controle, NP-Ind e NPP-Ind (Figura 4).

#### 4. Discussão

A quantidade de novilhas pré-púberes no início da estação de monta é um dos fatores que impactam a eficiência reprodutiva e longevidade de novilhas [11] e esta quantidade pode variar de acordo com a região ou fazenda (Fazenda 1: 84% e Fazenda 2: 56%). As avaliações mostraram que a quantidade de novilhas pré-púberes foi menor nas CR em relação as BI (66% vs. 74%, respectivamente), o que corrobora diversos autores que relataram que animais cruzados *Bos taurus* x *Bos indicus* apresentam menor idade à puberdade do que animais *Bos indicus* [11-12]; mesmo assim, a quantidade de novilhas pré-púberes neste estudo é considerada alta. Tratamentos hormonais para induzir primeira ovulação em novilhas são bem descritos na literatura [7-9]. A fisiologia por trás do protocolo que usa progesterona para induzir puberdade está relacionada à diminuição dos receptores de estradiol no hipotálamo[13], melhora do escore de útero [7] e também diminuição de luteólise prematura [7,14].

Claro Junior et al. [7] utilizaram um CIDR novo ou previamente utilizado (4<sup>o</sup> uso) por 12 dias para induzir puberdade em novilhas Nelore e submeteram as novilhas a um programa de detecção de cio e IA. Novilhas induzidas com CIDR de 4<sup>o</sup> uso apresentaram maior escore uterino, diâmetro folicular no momento da IA, menor intervalo para exibir estro e maior taxa de prenhez em comparação às novilhas induzidas com o CIDR novo, além disso a taxa de concepção foi igual à das novilhas que já eram púberes no início do estudo. Rodrigues et al. [8] adicionaram eCG e/ou ECP ao protocolo descrito por Claro Jr et al. [7] e aumentou a quantidade de novilhas que foram induzidas e detectadas em estro e inseminadas. No presente estudo,

novilhas que responderam ao protocolo de indução tiveram a mesma taxa de prenhez em relação às novilhas que estavam ciclando previamente (Figura 3 e 4) e estes dados permitem inferir que a estratégia reprodutiva utilizada é eficiente em induzir ciclicidade, melhorando a fertilidade das novilhas, já que estudos prévios relatavam que a fertilidade das novilhas era reduzida até a 3ª ovulação, sendo que as novilhas no presente estudo foram inseminadas na 2ª ovulação.

As taxas de prenhez em novilhas de corte apresentam uma maior variabilidade de resultados quando comparado a vacas lactantes ou não [15,16]. Esta variação é atribuída a quantidade de novilhas pré-púberes, como observado no presente estudo, e também devido à presença de folículos pequenos ao final do protocolo de IATF, o que gera baixas taxas de ovulação, e diminuição na prenhez [17, 18].

Uma associação entre o protocolo de indução descrito por Rodrigues et al. [8] e um protocolo de IATF com 3 diferentes intervalos (10, 12 ou 14 dias) entre fim da indução e início da IATF foi avaliado por Rodrigues et al. [9]. Iniciando o protocolo 12 ou 14 dias após o fim do protocolo de indução resultou em maiores taxas de prenhez do que 10 dias de intervalo (36,4%, 51,8% e 45,5% para 10, 12 e 14 dias, respectivamente). Os autores associaram a maior fertilidade devido ao momento da luteólise espontânea durante o protocolo de IATF, o que criou um maior período com menores concentrações de progesterona durante o protocolo, levando ao aumento na frequência de LH e no crescimento do folículo dominante. Além disso, este modelo permite aos técnicos fazerem a aplicação de PGF2 $\alpha$  no Dia 9 do protocolo [19], reduzindo manejo. Dias et al. [17] relataram que um CIDR que foi previamente utilizado por 18 d (3º uso) resulta em maiores taxas de concepção e prenhez quando comparados a um dispositivo novo (1º uso) ou um dispositivo que foi utilizado previamente por 9 dias (2º uso) (37,2% e 20,5% para 1º uso; 37,8% e 22,7% para 2º uso e 53,2% e 35,5% para 3º uso, respectivamente).

Novilhas cruzadas apresentam algumas diferenças em relação ao tamanho das estruturas ovarianas e perfil hormonal [20, 21]. Carvalho [20] relatou que novilhas cruzadas (Nelore x Angus), Angus e Nelore apresentam diferentes padrões de resposta quando submetidas ao mesmo protocolo de IATF. O protocolo utilizado foi o mesmo nas duas fazendas, contudo, na fazenda 1 o grupo genético interferiu na prenhez, sendo que o mesmo não ocorreu na fazenda 2. Fatores não ligados ao protocolo de IATF podem interferir nos resultados. Cooke et al. [22] observaram que animais com temperamento mais excitado tiveram menor taxa de prenhez à IATF.

Possíveis diferenças no manejo entre as fazendas, excitando o temperamento dos animais pode ser uma possível causa para esta diferença.

Em conclusão, a hipótese inicial do estudo foi aceita, novilhas pré-púberes e púberes podem ser sincronizadas com o protocolo de indução + IATF, sem diminuição na taxa de prenhez. As novilhas pré-púberes que não respondem ao protocolo de indução tiveram fertilidade reduzida no protocolo de IATF. Esta associação entre indução de puberdade e IATF permite aos técnicos trabalhar as novilhas agrupadas, sem necessidade de seleção prévia, induzindo todas no início da estação de monta. Utilizando o protocolo proposto, as novilhas serão inseminadas mais tarde na estação de monta, mais velhas e pesadas, levando a melhores taxas de indução e fertilidade e além disso, no ano subsequente o parto acontecerá mais próximo da estação de monta, assim, no momento da IATF as novilhas paridas terão menos dias pós-parto e maior ECC, o que é associado a maiores taxas de fertilidades em vacas primíparas [23].

## 5. Referências

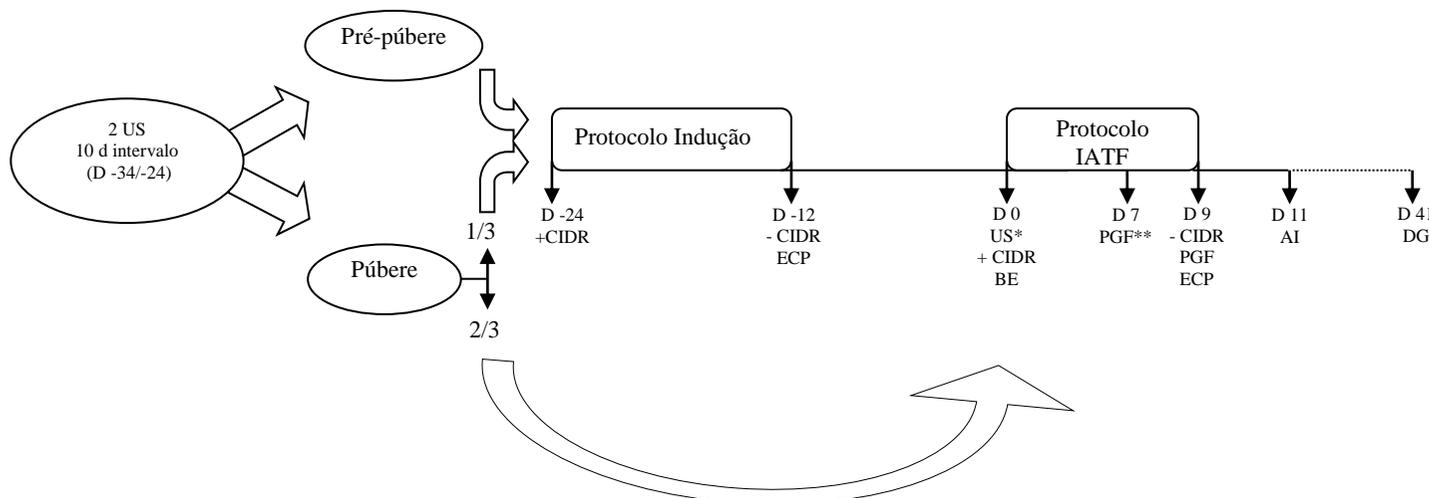
- [1] Byerley DJ, Staigmiller RB, Berardineli JG, Short RE. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. *Journal of Animal Science*. 1987; 65:645-50.
- [2] Gasser C, Behlke E, Grum D, Day M. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *Journal of Animal Science*. 2006; 84:3118-22.
- [3] Imwalle DB, Patterson DJ, Schillo KK. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. *Biol Reprod* 1998; 58:1432-6.
- [4] Rasby R, Day M, Johnson S, Kinder J, Lynch J, Short R, et al. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. *Theriogenology* 1998; 50:55-63.
- [5] Pfeifer LF, Siqueira LG, Mapletoft RJ, Kastelic JP, Adams GP, Colazo MG, et al. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology* 2009; 72:1054-64.

- [6] Anderson L, McDowell C, Day ML. Progesterin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol Reprod* 1996; 54:1025-31.
- [7] Claro Junior I, Peres RFG, Aono FHS, Day ML, Vasconcelos JLM. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology* 2010;74:903-11.
- [8] Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Day ML, Vasconcelos JLM. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2013; 79:135-41.
- [9] Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Carvalho ER, Day ML, Vasconcelos JLM. Effect of interval from induction of puberty to initiation of a timed AI protocol on pregnancy rates in Nelore heifers. *Theriogenology*. 2014; 82:760-66.
- [10] Houghton P, Lemenager R, Moss G, Hendrix K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *Journal of animal science*. 1990;68:1428-37.
- [11] Nogueira GP. Puberty in South America in *Bos indicus* (Zebu) cattle. *Animal Reproduction Science*. 2004;82-83:361.
- [12] Ferrel CL. Effects of post-weaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. *Journal of Animal Science*. 1982; 55:1272-1283.
- [13] Day ML, Anderson LH. Current concepts on the control of puberty in cattle. *Journal of Animal Science*. 1998; 76:1-15.
- [14] Sá Filho OG, Thatcher WW, Vasconcelos JLM. Effect of progesterone and/or estradiol prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows, *Animal Reproduction Science*. 2009;112:95-106.
- [15] Meneghetti M, Sá Filho OG, Peres RF, Lamb G, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. *Theriogenology*. 2009; 72:179-89.
- [16] Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres R, Lamb G, Vasconcelos J. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 2009;72:210-8.

- [17] Dias CC, Wechsler FS, Day ML, Vasconcelos JLM. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F (2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2009; 72:378-85.
- [18] Martins T, Peres RFG, Rodrigues ADP, Pohler KG, Pereira MHC, Day ML, Vasconcelos JLM
- [19] Kinder JE, Kojima FN, Bergfeld EG, Wehrman ME, Fike KE. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*. 1996; 74: 1424-4.
- [20] Carvalho JB, Carvalho NA, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:167-75.
- [21] Randel RD, LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *Journal of Animal Science*. 1976, 43: 300-1.
- [22] Cooke RF, Arthington JD, Austin BR, Yelich JV. Effects of acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred heifers. *Journal of Animal Science*. 2009, 87:3403-3412.
- [23] Meneghetti M, Vasconcelos JLM. Calving date, body condition score, and response to a timed-AI artificial insemination protocol in first calving beef cows. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*. 2008; 60: 786-793.

1

## Tabelas e figuras



**Figura 1** – Delineamento Experimental: Duas avaliações por US consecutivas para avaliar presença de CL (D -34 e -24); todas as novilhas pré-púberes e 1/3 das novilhas ciclando receberam o protocolo de indução associado ao protocolo de IATF. D -24: CIDR; D -12: Retirada do CIDR + 0,6 mg im de ECP; D 0: Todas as novilhas tratadas com o seguinte protocolo de IATF: CIDR 3º uso + 2,0 mg im de BE; D 7: Novilhas do grupo controle receberam 12,5 mg im PGF; D 9: Retirada do CIDR + 12,5 mg im PGF (Novilhas induzidas) e 0,6 mg im ECP; D 11: IATF; D 41 Diagnostico de gestação.

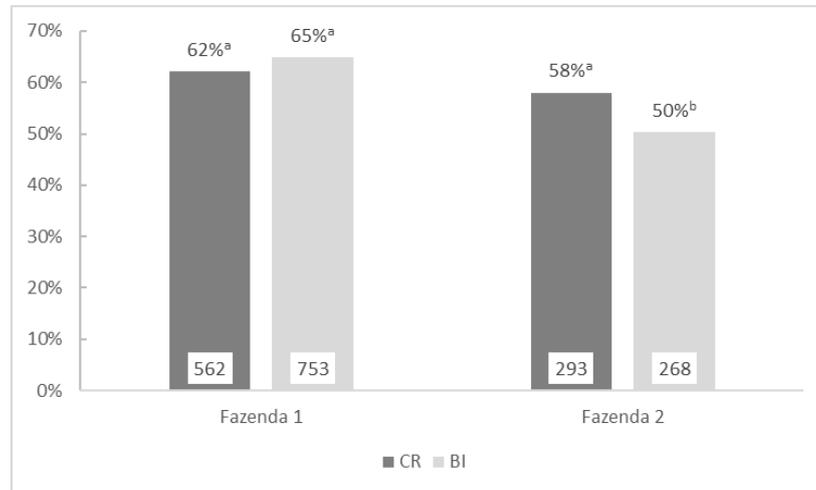
**US:** Avaliação por Ultrassom; **ECP:** Cipionato de Estradiol, 0,6 mg; **BE:** Benzoato de Estradiol, 2 mg; **PGF:** Dinoprost trometamine, 12,5 mg; **AI:** IATF

\* - Apenas novilhas pré-púberes;

\*\* - Apenas nas novilhas do grupo controle

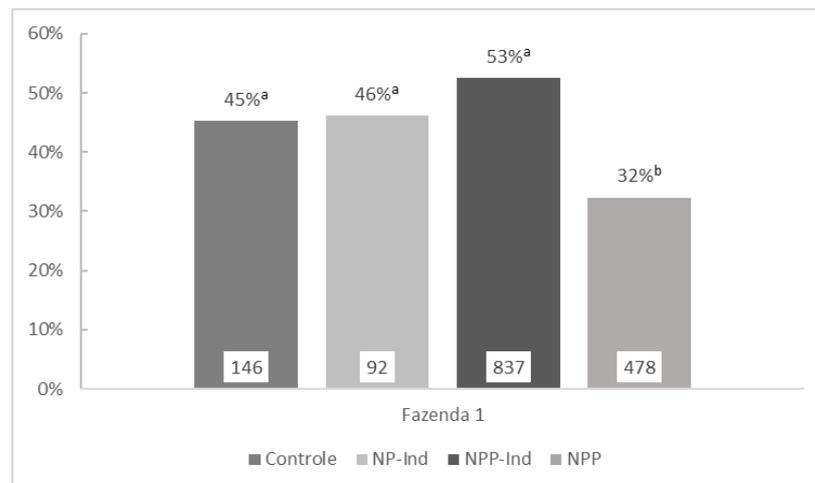
2

3



**Figura 2** – Taxa de indução de puberdade de acordo com a raça e fazenda. CR: Novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus*; BI Novilhas *Bos indicus*.

a-b: Médias diferem entre si ( $P < 0,05$ ).



**Figura 3** - Taxa de prenhez a IATF de acordo com o grupo experimental na fazenda 1.

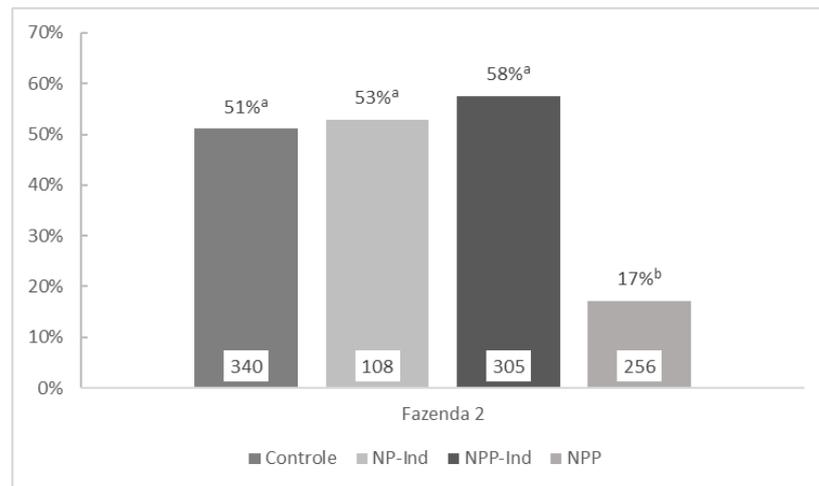
Controle: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo padrão;

NP-Ind: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF;

NPP-Ind: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que responderam ao protocolo de indução;

NPP: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que não responderam ao protocolo de indução.

a-b: Médias diferem estatisticamente entre si ( $P < 0,05$ ).



**Figura 4** - Taxa de prenhez a IATF de acordo com o grupo experimental na fazenda 2.

Controle: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo padrão;

NP-Ind: Novilhas púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF;

NPP-Ind: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que responderam ao protocolo de indução;

NPP: Novilhas pré-púberes sincronizadas com o protocolo de indução + IATF e que não responderam ao protocolo de indução.

a-b: Médias diferem estatisticamente entre si ( $P < 0,05$ ).

## **CAPÍTULO 3**

### **“Experimento 2”**

**Desempenho reprodutivo em novilhas *Bos indicus* e  
*Bos taurus* x *Bos indicus* aos 12 meses de idade**

## Desempenho reprodutivo em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* aos 12 meses de idade

### RESUMO

A resposta de novilhas de diferentes grupos genéticos a um protocolo de indução de puberdade e IATF com idade entre 12 e 14 meses foi avaliada. No início do protocolo de indução de puberdade, as novilhas *Bos indicus* (BI; n = 433) estavam com  $11,4 \pm 0,05$  meses de idade, pesando  $278,1 \pm 1,6$  Kg e ECC de  $3,6 \pm 0,02$  e as novilhas F1 *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR; n = 414) com  $12,1 \pm 0,26$  meses de idade, pesando  $306,9 \pm 1,7$  Kg e ECC de  $4,1 \pm 0,02$ . Todas as novilhas receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 previamente utilizado por 27 dias (4º uso; CIDR) no D-22. No D-10 o CIDR foi removido e as novilhas tratadas i.m. com 0,5 mg de cipionato de estradiol. No D0, as novilhas foram avaliadas por ultrassonografia transretal (Aloka SSD 500) para determinar a presença de corpo lúteo (CL). Todas as novilhas foram sincronizadas com o seguinte protocolo: 2,0 mg i.m. de benzoato de estradiol e inserção de um CIDR de 3º uso no D0, 12,5 mg i.m. de dinoprost trometamina no D7, no D9 o CIDR foi removido e as novilhas receberam 0,5 mg i.m. de ECP e 200 UI i.m. de eCG. A IATF foi realizada no D11, 48 horas após a remoção do CIDR. O diagnóstico de gestação foi realizado no D41. Os dados foram analisados utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS. Os dados foram reportados como média dos quadrados mínimos e adotou-se significância quando  $P \leq 0,05$ . A presença de CL no D0 não diferiu entre raças (BI: 79,9% e CR: 78,8%). Animais mais pesados apresentaram maior ( $P < 0,01$ ) presença de CL, independentemente de raça. Houve efeito de CL no D0 ( $P = 0,05$ ) na taxa de prenhez à IATF (Com CL: 57,5% [370/650] vs. Sem CL: 44,3% [74/169]). Não foi detectada interação entre presença de CL e raça na prenhez, sendo que novilhas BI tiveram menor P/IA (46,9%; 199/433) do que as novilhas CR (62,6%; 259/414). Houve interação entre peso e CL no D0 na P/IA, sendo que em novilhas com CL no D0 o peso não interferiu na probabilidade de prenhez ( $P > 0,05$ ), entretanto para animais sem CL quanto maior peso corporal, maior a probabilidade de prenhez ( $P < 0,05$ ). A resposta ao protocolo de indução de puberdade em novilhas depende do peso dos animais e associados ao protocolo de IATF permitem taxa de prenhez acima de 50% em animais que respondem ao protocolo de indução de puberdade. Em resumo, novilhas podem ser inseminadas precocemente, entretanto a presença de CL no início do protocolo e o peso corporal

podem determinar o sucesso da técnica. Além disso, sob mesmas condições, novilhas cruzadas *Bos taurus* x *Bos indicus* apresentaram maior prenhez em comparação a novilhas *Bos indicus* quando desafiadas precocemente.

Palavras-chaves: *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus*, IATF, Puberdade.

## Reproductive performance in 12 months old *Bos indicus* and *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers

### ABSTRACT

The response of heifers from different genetic groups to protocols for induction of puberty and TAI between 12 and 14 months old were evaluated. At the beginning of the induction protocol, *Bos indicus* heifers (BI; n = 433) were  $11.4 \pm 0.05$  mo old, weighted  $278.1 \pm 1.6$  Kg and had a BCS of  $3.6 \pm 0.02$  and *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers (BI; n = 414) were  $9.2 \pm 0.26$  mo old, weighted  $306.9 \pm 1.7$  Kg and had a BCS of  $4.1 \pm 0.02$ . All heifers received an intravaginal device containing 1.9 g of P4 previously used for 27 days (4<sup>th</sup> use) on D-22. On D-10, CIDR was removed and heifers received 0.5 mg of estradiol cypionate i.m. On D0, heifers were evaluated by transrectal ultrasonography (Aloka SSD 500) to detect the presence of a corpus luteum (CL). All heifers were synchronized with the following protocol: 2.0 mg i.m. of estradiol benzoate and insertion of a 3<sup>rd</sup> use CIDR on D0, 12.5 mg i.m. of dinoprost tromethamine on D7, on D9 the CIDR was removed and heifers received 0.5 mg i.m. of ECP and 200 IU of eCG. The TAI was performed on D11, 48 h after CIDR withdrawal. Pregnancy diagnosis was performed on D41. Data were analyzed using the GLIMMIX procedure of SAS. The data were reported as least square means and significance was set when  $P < 0.05$ . The CL presence on D0 did not differ between breeds (BI: 79.9% and CR: 78.8%). Independent of the genetic group heavier heifers were more likely ( $P < 0.05$ ) to have a CL on D0. There was an effect of CL presence at D0 ( $P < 0.05$ ) on P/AI (With CL: 57.5% [370/650] vs. Without CL: 44.3% [74/169]). The interaction between CL presence on D0 and genetic group did not affect P/AI, and BI heifers had lower ( $P < 0.05$ ) P/AI (46.9%; 199/433) in comparison to CR heifers (62.6%; 259/414). An interaction between CL presence on D0 x weight was detected for P/AI. In heifers with CL, the weight did not have effect ( $P > 0.1$ ) on P/AI; however, in heifers without CL, heavier heifers were more likely ( $P < 0.05$ ) to become pregnant. The response to the puberty induction depends on body weight and, when associated to TAI, allows P/AI above 50% in heifers that respond to the puberty induction protocol. In summary, heifers can be inseminated at younger ages; however, the presence of a CL at the start of the TAI protocol and body weight can determine the technic success. Furthermore,

under the same conditions *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers have higher pregnancy rate than *Bos indicus* heifers.

Keywords: *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus*, Puberty, TAI.

## 1. Introdução

Novilhas *Bos taurus* que parem pela primeira vez aos dois anos de idade ao invés dos três produzem mais bezerros durante a vida produtiva e permanecem por mais tempo no rebanho [1]. Além disso, Nunez-Dominguez et al. [2], sugerem que selecionar novilhas que parem aos 2 anos é mais efetivo para fertilidade do que em outras idades. Diversos estudos já demonstraram que é possível antecipar a ocorrência da puberdade através de manipulações nutricionais [3] ou hormonais [4, 5].

No centro-oeste do Brasil a maioria dos rebanhos é composta por animais *Bos indicus*, especialmente da raça Nelore, devido à sua rusticidade e adaptabilidade ao ambiente tropical. Novilhas *Bos indicus* possuem maior idade à puberdade em comparação a novilhas *Bos taurus* [6] ou novilhas cruzadas [7]. A adoção e uso intensivo dos programas de IATF aumentou significativamente o uso de genética *Bos taurus*, especialmente de sêmen de touros Angus e, como consequência, o uso de fêmeas cruzadas nos rebanhos vem aumentando consideravelmente.

Independente da raça, o manejo de novilhas para parir aos 2 anos de idade ainda não é muito comum nas fazendas brasileiras. Informações científicas a respeito de novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* desafiadas aos 12 meses de idade dentro do mesmo sistema de produção no Brasil são escassas. O presente estudo tem como objetivo avaliar o protocolo de indução e IATF proposto por Rodrigues et al. [8], em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* aos 12 meses de idade submetidas ao mesmo manejo de criação. A hipótese do estudo é que novilhas púberes e pré-púberes que apresentam CL no D0 da IATF têm maior taxa de prenhez que as novilhas sem CL, independente de raça

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Animais e localidade

Um total de 847 novilhas, sendo 433 *Bos indicus* (BI) e 414 F1 *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR) nascidas entre agosto e dezembro de 2011, localizadas em uma fazenda comercial no estado de Goiás, foram utilizadas no estudo. Todas as novilhas foram desmamadas no dia 15 de maio de 2012 e aleatoriamente divididas em 8 currais de confinamentos, separadas por raça. As novilhas eram tratadas quatro vezes ao dia com uma mistura de silagem de milho e núcleo proteico (Tabela 1). O trato era

ajustado diariamente com acesso livre à água. No início do período experimental (1 de outubro de 2012; D -22) as novilhas Nelore estavam com  $11,4 \pm 0,05$  meses de idade,  $278 \pm 1,6$  Kg de peso vivo e ECC médio de  $3,6 \pm 0,02$  (1= emaciada e 5= obesa, [9]) obesa e as novilhas Cruzadas tinham  $12,1 \pm 0,26$  meses de idade,  $306,9 \pm 1,7$  Kg de peso vivo e ECC médio de  $4,1 \pm 0,02$ .

## 2.2. Delineamento experimental

Todas as novilhas foram sincronizadas com o protocolo proposto por Rodrigues et al. [8]: Um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 previamente utilizado por 3 vezes de 9 dias cada uso (4º uso; CIDR<sup>®</sup>, Zoetis) no Dia -22, retirada do CIDR e aplicação i.m. de 0,6 mg de cipionato de estradiol (0,3 mL; E.C.P.<sup>®</sup>; Zoetis) no Dia -10; no Dia 0 as novilhas receberam um CIDR previamente utilizado por 2 vezes de 9 dias cada uso (3º uso) e aplicação de 2,0 mg i.m. de benzoato de estradiol (2,0 mL; Gonadiol<sup>®</sup>; Zoetis), no Dia 7 as novilhas receberam 12,5 mg de dinoprost trometamine (2,5 mL; Lutalyse<sup>®</sup>; Zoetis); retirada do CIDR e aplicação i.m. de 0,6 mg de E.C.P.<sup>®</sup> e 200 UI de gonadotrofina coriônica equina i.m. (eCG; 1,0 mL; Folligon<sup>®</sup>; MSD Saúde Animal, Cruzeiro, SP, Brasil) no Dia 9 e a IATF foi realizada 48 horas após a retirada do CIDR, no Dia 11 (Figura 1).

As novilhas foram avaliadas por ultrassonografia transretal (ALOKA SSD-500, transdutor linear 7,5 MHz) no Dia 0 para avaliar a presença de CL, bem como no Dia 41 para realizar o diagnóstico gestacional. No Dia 41, as novilhas prenhas foram movidas para pastos de *Brachiaria brizantha* com acesso *ad libitum* à água e sal mineral. As novilhas diagnosticadas como não prenhas foram resincronizadas com o mesmo protocolo de IATF descrito (Dia 0: CIDR+BE; Dia 7: PGF; Dia 9: Retirada do CIDR+E.C.P.+eCG e Dia 11: IA) para uma segunda IATF e mantidas nos currais até o dia do segundo diagnóstico gestacional (Dia 82).

## 2.3. Análise Estatística

As variáveis dependentes binomiais como presença de CL no Dia 0, taxa de prenhez na primeira e segunda IATF e taxa de prenhez final foram analisadas utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). O modelo para

avaliar a presença de CL e taxa de prenhez final incluiu os efeitos de raça e idade, e para a taxa de prenhez à primeira e segunda IA, o modelo incluiu os efeitos de presença de CL no Dia 0, raça, idade, inseminador e sêmen.

Para avaliar o efeito do peso corporal na ciclicidade (presença de CL no Dia 0) e na probabilidade de prenhez à primeira IATF foi utilizado o procedimento GLM do SAS. A partir do modelo de regressão, foram determinados os valores do coeficiente linear e coeficiente angular de acordo com a probabilidade máxima estimada para cada efeito significativo e a probabilidade de concepção foi determinada de acordo com a seguinte equação:  $\text{Probabilidade} = (e^{a \cdot x + b}) / (1 + e^{a \cdot x + b})$ .

Para todas as análises, novilha foi considerada a unidade experimental; resultados foram reportados como médias dos quadrados mínimos e diferenças foram consideradas significantes quando  $P \leq 0,05$ , enquanto que tendências foram consideradas quando  $P \leq 0,1$  e  $> 0,05$ .

### 3. Resultados

A quantidade de novilhas com CL no Dia 0 da IATF não foi diferente entre os grupos genéticos (Figura 2). A presença de CL no Dia 0 não foi influenciada por idade ou raça ( $P > 0,10$ ; Figura 2). O peso corporal afetou a presença de CL no Dia 0 do protocolo de IATF ( $P < 0,05$ ; Figura 3)

Houve interação entre peso e presença de CL no Dia 0 na probabilidade de prenhez a primeira IATF ( $P < 0,05$ ). Em novilhas que tinham CL no Dia 0, o peso não afetou a probabilidade de prenhez, enquanto em novilhas que não tinham CL no Dia 0, o peso influenciou positivamente a prenhez (Figura 4).

A taxa de prenhez na primeira IATF foi afetada ( $P < 0,05$ ) pelo grupo genético e pela presença de CL no Dia 0, novilhas CR tiveram maior taxa de prenhez na primeira IATF do que as novilhas BI ( $P < 0,05$ ; Figura 5) e independente de raça novilhas com CL no Dia 0 tiveram maior taxa de prenhez na primeira IATF em relação as novilhas sem CL no Dia 0 ( $P < 0,05$ ; Figura 6).

A taxa de prenhez na segunda IATF bem como a taxa de prenhez final foi influenciada pela raça. Novilhas CR tiveram maior taxa de prenhez a segunda IATF (45,8% vs. 24,8%, para novilhas CR e BI, respectivamente) e maior taxa de prenhez final do que novilhas BI ( $P < 0,05$ ; Figura 7).

### 4. Discussão

Novilhas BI e novilhas CR apresentaram a mesma taxa de ciclicidade (Figura 2) no início do protocolo de IATF. Day et al. [10], demonstraram que o mecanismo responsável pela ocorrência da puberdade é a diminuição gradativa do feedback negativo do estradiol no hipotálamo, o que ocorre na fase denominada peripuberdade. Em média, novilhas *Bos taurus* a peripuberdade acontece até os 12 meses de idade [11]. Novilhas *Bos indicus* são conhecidas por manifestarem puberdade com maior idade do que novilhas mestiças, as quais manifestam puberdade mais tardiamente em relação a novilhas *Bos taurus* [12, 13]. Rodrigues et al. [14], avaliaram o momento no decréscimo no *feedback* negativo de estradiol em novilhas *Bos indicus* e novilhas *Bos taurus* criadas em região tropical a pasto. Em resumo, novilhas *Bos taurus* apresentaram menor idade e menor peso à puberdade do que novilhas *Bos indicus*, sendo que o aumento na pulsatilidade de LH que precede o início da puberdade ocorreu aos 16 e 22 meses para novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus*, respectivamente.

Gasser et al. [15-18], desenvolveram uma série de estudos em novilhas *Bos taurus* que demonstraram que em novilhas recebendo dietas para maiores ganhos, ocorre a antecipação no momento de queda do *feedback* negativo do estradiol. No presente estudo, as novilhas foram tratadas acima dos requerimento de manutenção e, esta associação entre manejo nutricional e hormonal pode ser a causa da não diferença de ciclicidade entre novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus*. Novilhas Brahman recebendo dieta acima da exigência de manutenção, apresentaram menor idade à puberdade em relação às novilhas recebendo apenas a dieta de manutenção. Recentemente, Ferraz [19] tratou novilhas Nelore e novilhas F1 Nelore x Angus para ganharem 1 ou 0,5 kg/dia em duas fases, dos 3 aos 7 meses de idade e dos 7 meses à puberdade em delineamento fatorial 2x2. Novilhas cruzadas tratadas para ganharem 1 kg/dia em qualquer uma das fases tiveram menor idade a puberdade em relação as novilhas tratadas para ganharem 0,5 kg/dia durante todo o período experimental. Já as novilhas Nelore, não tiveram antecipação na idade à puberdade, entretanto, a porcentagem de novilhas que atingiram a puberdade aos 17 meses foi maior para as novilhas ganhando 1 kg/dia durante todo o período experimental.

Rodrigues et al. [5] mostraram que novilhas com menos de 300 Kg de peso corporal tiveram menores taxas de indução e prenhez após detecção de cio e IA. No presente estudo, o peso corporal influenciou a probabilidade de resposta à indução e também a prenhez nas novilhas que não responderam a indução. Houve efeito positivo do peso corporal na taxa de indução (figura 3). Sá Filho et al. [20],

encontraram maiores taxas de indução em novilhas com maior ECC, entretanto sem efeito na taxa de prenhez. De acordo com Day & Maquivar [11], existem 3 fases que precedem a puberdade: Infantil; estática e peri-púbere. Conforme o *feedback* negativo que o estradiol exerce no hipotálamo começa a diminuir, os folículos presentes nos ovários dessas novilhas tornam-se maiores. Tratamentos hormonais para induzir a puberdade são mais efetivos em novilhas que já estão na fase peripuberdade e novilhas com maior peso corporal provavelmente estão mais próximas da puberdade [11].

O peso corporal não influenciou a probabilidade de prenhez nas novilhas detectadas com CL no início da IATF, entretanto nas novilhas sem CL, quanto maior o peso maior foi a probabilidade de prenhez. Sá Filho et al., [20] não detectaram efeito do ECC na prenhez por IA em novilhas submetidas ao protocolo de indução, entretanto apenas novilhas com CL no início do protocolo de indução foram utilizadas. Estes dados estão de acordo com os resultados do presente estudo, evidenciando que em novilhas que já estão ciclando o peso corporal tem menor impacto na fertilidade.

A taxa de prenhez na primeira e segunda IATF foi maior para as novilhas CR (62,9 e 45,8%) do que para as novilhas BI (46,9 e 24,8%). Randel et al. [21], verificou que novilhas Brahman têm menor pico de LH do que novilhas Hereford ou cruzadas (B x H), podendo diminuir a resposta ovulatória e, conseqüentemente, a prenhez. Esse dado sugere que a P4 possa atuar de maneira diferente de acordo com os grupos genéticos, exercendo uma maior supressão na liberação de LH nos animais *Bos indicus*. Outros também relataram menor taxa de ovulação em novilhas *Bos indicus* (39%) do que em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* (84%) ou *Bos taurus* (73%) [22]. Outra hipótese para essa diferença na taxa de prenhez seria o maior metabolismo de P4 nos animais *Bos taurus* e CR, o que levaria a menores concentrações de P4 estimulando a liberação de LH [23] e aumentando o diâmetro folicular, taxa de ovulação [22] e conseqüentemente, a prenhez. Novilhas *Bos taurus* e novilhas CR geralmente apresentam maior diâmetro de folículo ovulatório [21-23]. Sabe-se que o diâmetro do folículo ovulatório está relacionado ao diâmetro do CL e subsequente concentração de P4 no diestro e concentrações insuficientes de P4 no diestro são relacionados a diminuição da fertilidade [24].

De acordo com os resultados obtidos, a hipótese inicial do estudo foi parcialmente aceita. Novilhas que apresentavam CL no Dia 0 do protocolo de IATF tiveram maior prenhez em relação as novilhas sem CL no Dia 0, entretanto, o grupo genético afetou

a taxa de prenhez a IATF. Em conclusão, o protocolo reprodutivo proposto por Rodrigues et al. [8] apresenta resultados satisfatórios em novilhas desafiadas aos 12 meses de idade, sendo que novilhas CR tiveram maior taxa de prenhez em relação as novilhas BI.

### **Agradecimentos**

À Zoetis por toda a colaboração, à Fazenda Esplanada e Grupo VB por permitirem o uso dos animais e locações e ao CNPq e à FAPESP (Processo nº 2014/05270-9) pela concessão da bolsa de estudos.

### **5. Referências**

- [1] Martin LC, Brinks JS, Bourdon RM, Cundiff LV. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *Journal of Animal Science*. 1992; 70: 4006-17.
- [2] Nunez-Dominguez R, Cundiff LV, Dickerson GE, Gregory KE, Koch, R. M. Lifetime production of beef heifers calving first at two vs three years of age. *Journal of Animal Science*. 1991;69:3467-3479.
- [3] Gasser CL, Behlke EJ, Grum DE, Day ML. Effect of timing of feeding high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *Journal of Animal Science*. 2006; 84:3118 - 3122.
- [4] Anderson LH, Mcdowell CM, Day ML. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biology of Reproduction*. 1996; 54:1025-31.
- [5] Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Day ML, Vasconcelos JLM. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2013; 79:135-141.
- [6] Ferrell CL. Effects of post-weaning rate of gain on onset of puberty and productive performance of heifers of different breeds. *Journal of Animal Science*. 1982; 55:1272 - 1283.
- [7] Perry RC, Corah LR, Cochran RC, Brethour JR, Olson KC, Higgins JJ. Effect of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. *Journal Prod. Agric*. 1991; 4: 13-18.

- [8] Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Carvalho ER, Day ML, Vasconcelos JLM. Effect of interval from induction of puberty to initiation of a timed AI protocol on pregnancy rates in Nelore heifers. *Theriogenology*. 2014; 82:760-66.
- [9] Houghton P, Lemenager R, Moss G, Hendrix K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *Journal of animal science*. 1990;68:1428-37.
- [10] Day ML, Anderson LH. Current Concepts on the Control of Puberty in Cattle. *Journal of Animal Science*. 1998;76:1-15.
- [11] Day ML, Maquivar M. Puberty in heifers: nutrition and endocrinology. In: Proc. AETA Jt. Annu. Conv, 2014.
- [12] Mezzadra C, Homse A, Sampedro D, Alberio R. Pubertal traits and seasonal variation of the sexual activity in Brahman, Hereford and crossbred heifers. *Theriogenology*. 1993; 40: 987-996.
- [13] Martin LC, Brinks JS, Bourdon RM, Cundiff LV. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. *Journal of Animal Science*. 1992; 70: 4006-4017.
- [14] Rodrigues HD, Kinder JE, Fitzpatrick LA. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. *Biology of Reproduction*. 2002; 66:603-609.
- [15] Gasser C, Grum D, Mussard M, Fluharty F, Kinder J, Day M. Induction of precocious puberty in heifers I: enhanced secretion of luteinizing hormone. *J Anim Sci* 2006;84:2035-41.
- [16] Gasser C, Burke C, Mussard M, Behlke E, Grum D, Kinder J, et al. Induction of precocious puberty in heifers II: advanced ovarian follicular development. *J Anim Sci* 2006;84:2042-9.
- [17] Gasser C, Bridges G, Mussard M, Grum D, Kinder J, Day M. Induction of precocious puberty in heifers III: hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. *J Anim Sci* 2006;84:2050-6.
- [18] Gasser C, Behlke E, Grum D, Day M. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *J Anim Sci* 2006;84:3118-22.

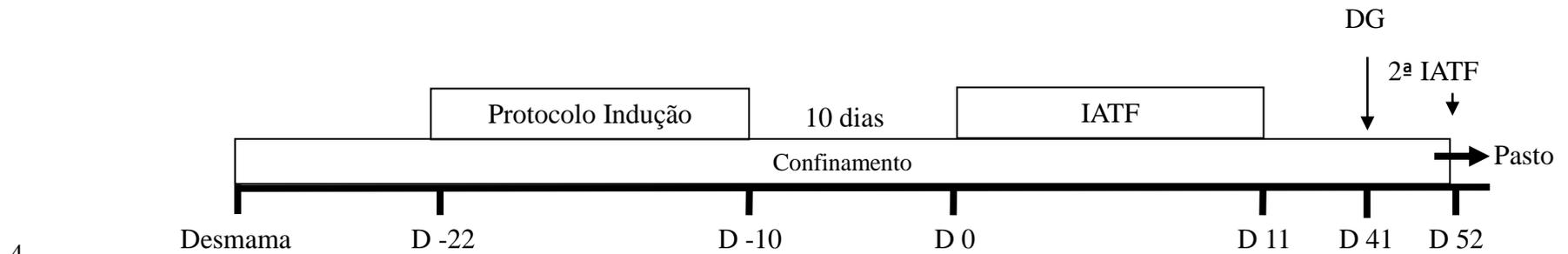
- [19] Ferraz MVC. Efeito da nutrição na puberdade de novilhas Nelore e Cruzadas. Não publicado. 2016.
- [20] Sá Filho MF, Nasser LFT, Penteado L, Prestes R, Marques MO, Freitas BG, Monteiro BM, Ferreira RM, Gimenes LU, Baruselli PS. Impact progesterone and estradiol treatment before the onset of the breeding period on reproductive performance of *Bos indicus* heifers. *Animal Reproduction Science*. 2015; 160: 30-39.
- [21] Randel RD, LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *Journal of Animal Science*. 1976, 43: 300-1.
- [22] Carvalho JB, Carvalho NA, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:167-75.
- [23] Sartori R, Gimenes LU, Monteiro Jr PLJ, Melo LF, Baruselli PS, Bastos MR. Metabolic and endocrine differences between *Bos taurus* and *Bos indicus* females that impact the interaction of nutrition with reproduction. *Theriogenology*. 2016; 86:32-40.
- [24] Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 2001;56:307-14.

### Tabelas e figuras

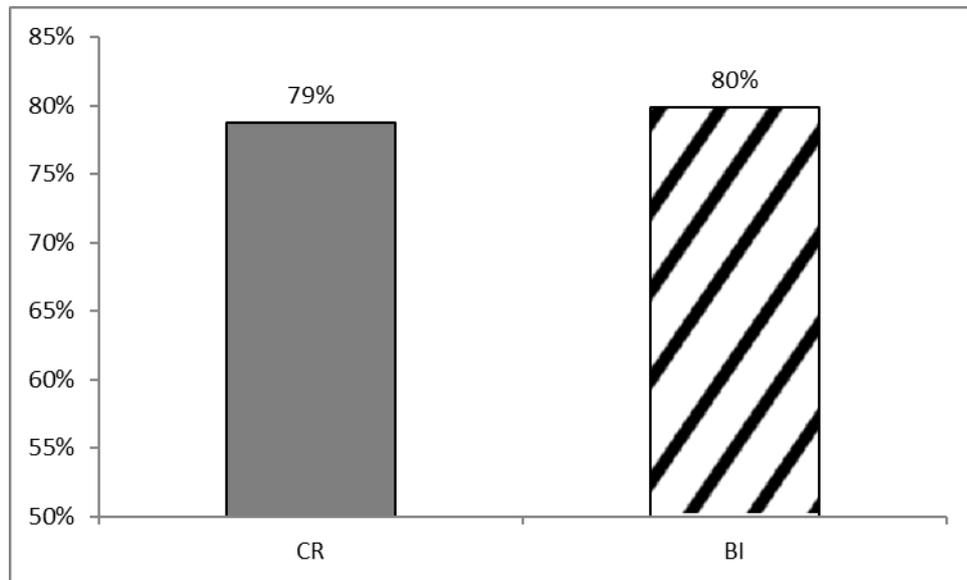
**Tabela 1** – Composição dos ingredientes e perfil dos nutrientes da dieta fornecida as novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus*.

Ingrediente	% na mistura	Nutrientes na dieta (% na MS)	
Silagem de Milho	88,85	Matéria Seca, %	36,55
Farelo de Soja	8,00	PB, %	14,00
Sal Branco	0,40	FDN, %	38,20
Ureia	1,00	EE, %	2,32
Calcário	0,90	EnLiq. Manutença, Mcal/Kg	1,61
Fosfato Bicálcio	0,60	EnLiq. Ganho, Mcal/Kg	1,03
Premix mineral	0,25	Ca, %	0,70
Total	100	P, %	0,36
		K, %	1,01
		S, %	0,20
		Na, %	0,17
		Cu, mg/Kg	10,00
		Co, mg/Kg	0,50
		I, mg/Kg	0,75
		Mn, mg/Kg	0,20
		Se, mg/Kg	0,15
		Zn, mg/Kg	0,30

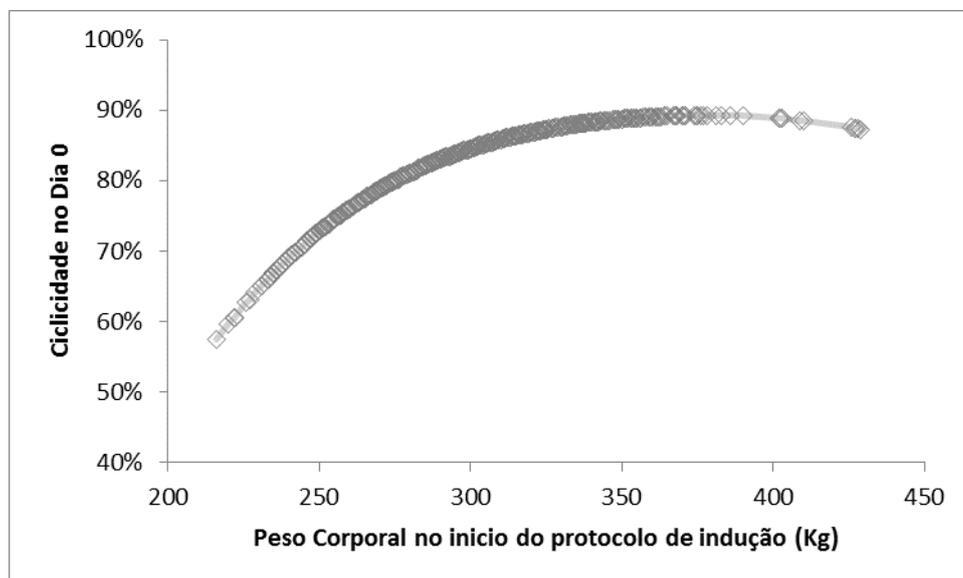
1  
2  
3



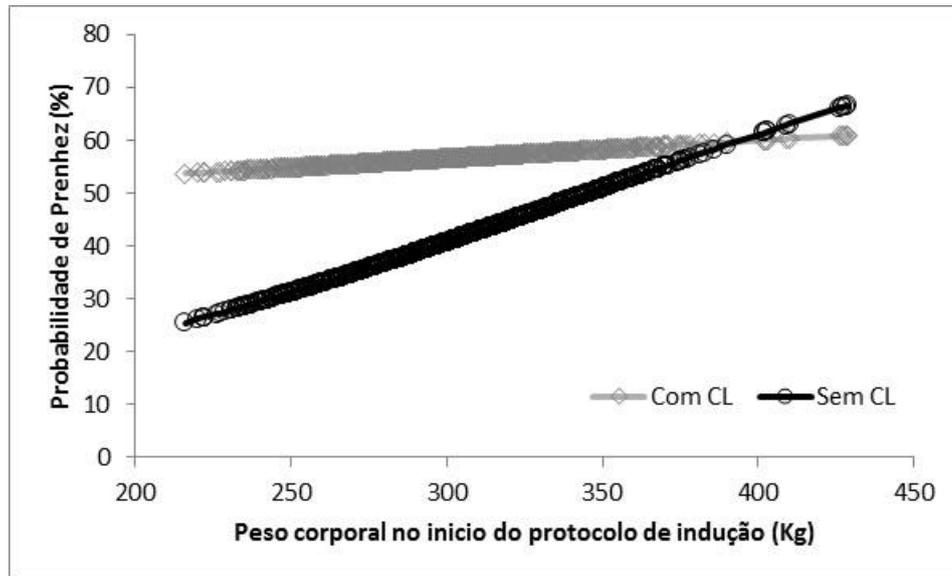
**Figura 1** – Delineamento Experimental. Bezerras foram desmamadas (15/Maio) e foram recriadas no confinamento; Todas as novilhas receberam o protocolo de indução associado a IATF [8]. D-22: CIDR de 4<sup>o</sup> uso; D -12: Retirada do CIDR + 0,3 mg de ECP; D0: CIDR 3<sup>o</sup> uso+ 2,0 mg de BE e avaliação ultrassonográfica para avaliar a presença de CL.D 7: Aplicação de 12,5 mg de PGF; D 9: Retirada do CIDR + 0,3 mg de ECP; D11: Inseminação Artificial; D 41: Diagnóstico de gestação, novilhas vazias receberam o mesmo protocolo de IATF descrito anteriormente. Novilhas prenhas foram soltas para o pasto. D52: 2ª Inseminação Artificial; D 82: Diagnostico de gestação 2ª IA.



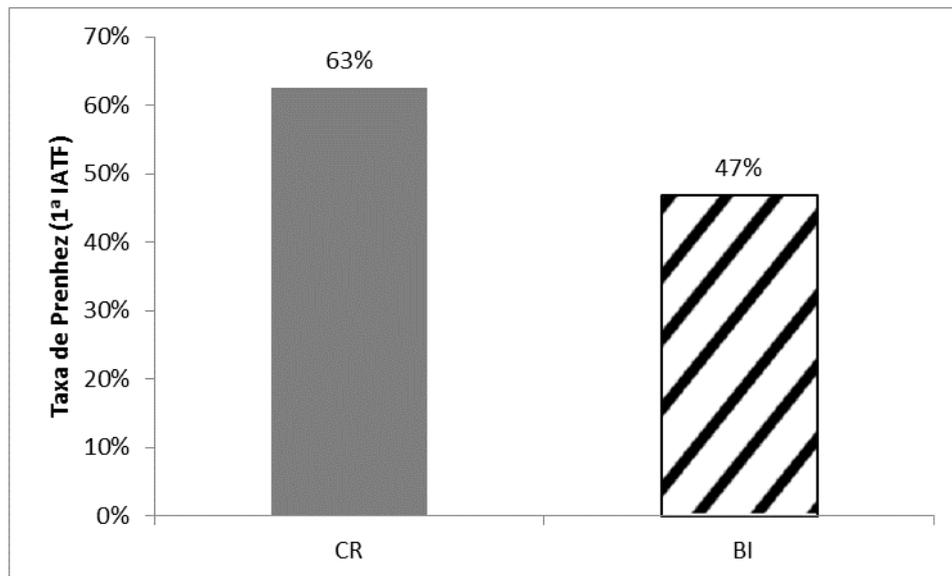
**Figura 2** – Taxa de ciclicidade no início do protocolo de IATF de acordo com o grupo genético (CR: novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus*; BI: novilhas *Bos indicus*) em novilhas submetidas ao protocolo de indução associado à IATF.



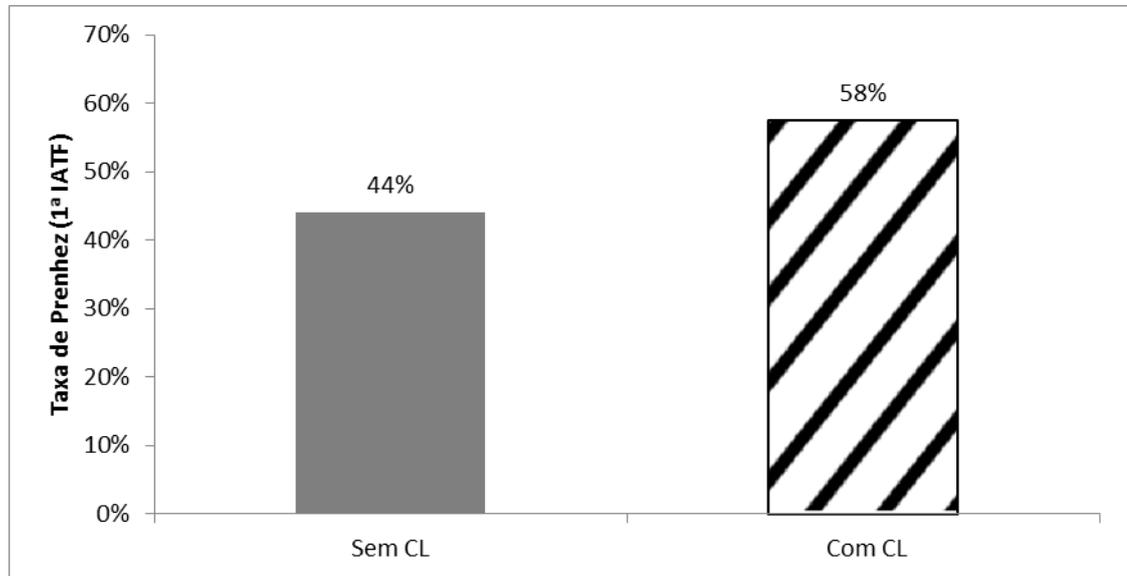
**Figura 3** – Probabilidade de ciclicidade no Dia 0 do protocolo de IATF de acordo com o peso corporal.



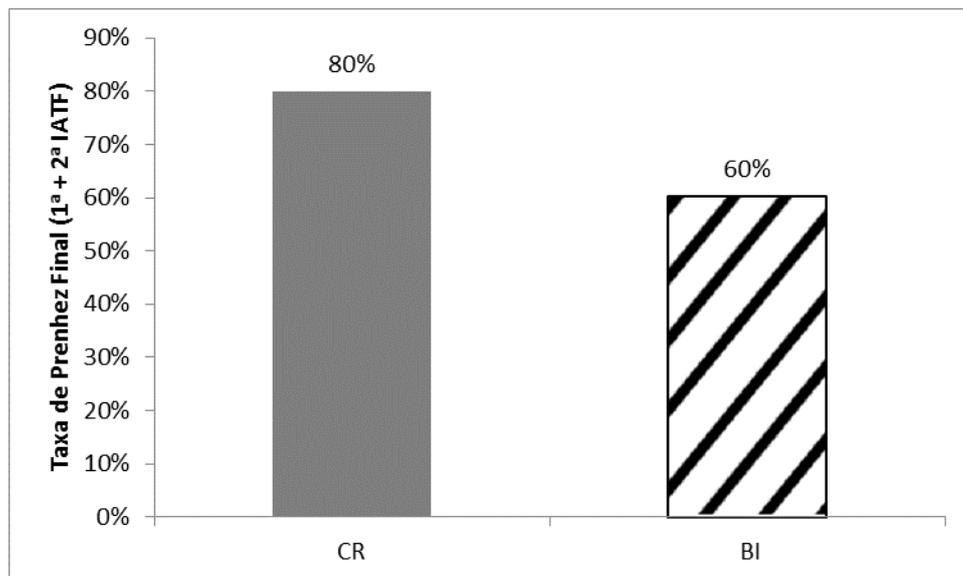
**Figura 4** – Probabilidade de prenhez de de acordo com o peso corporal.



**Figura 5** – Taxa de prenhez no 1º protocolo de IATF de acordo com o grupo genético (CR: novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus*; BI: novilhas *Bos indicus*) em novilhas submetidas ao protocolo de indução associado à IATF.



**Figure 6** – Taxa de prenhez na 1ª IATF de acordo com a presença de CL no Dia 0 do protocolo de IATF.



**Figura 7** - Taxa de prenhez ao final da estação de monta (1ª + 2ª IATF) de acordo com o grupo genético (CR: novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus*; BI: novilhas *Bos indicus*) em novilhas submetidas ao protocolo de indução associado à IATF.

## **CAPÍTULO 4**

### **“Experimento 3”**

**Influência da raça, concentração de progesterona circulante e tratamento com eCG em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* submetidas a protocolos de sincronização da ovulação**

**Influência da raça, concentração de progesterona circulante e tratamento com eCG em novilhas *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* submetidas a protocolos de sincronização da ovulação**

**RESUMO**

Este estudo avaliou o efeito da concentração de P4 e o tratamento com eCG em novilhas *Bos indicus* (BI) e *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR) submetidas a protocolos de IATF. As novilhas utilizadas no estudo (n = 1.989) incluíram BI (n = 992) e CR (997) entre 14 e 24 meses de idade (ECC: 3,08 ± 0,01; Peso: 329,09 ± 0,66 Kg). Inicialmente, duas avaliações ultrassonográficas foram realizadas (7 dias de intervalo) em todas as novilhas utilizadas no estudo para identificar aquelas com CL. Novilhas que foram detectadas com CL foram submetidas a protocolo de IATF. As novilhas que não foram detectadas com CL em ambas as avaliações ultrassonográficas foram submetidas a protocolo de indução de puberdade (Rodrigues et al., 2014). Novilhas induzidas que estavam com CL 12 dias após a indução de puberdade permaneceram no estudo. O protocolo de IATF utilizado consistiu de: D0 – Inserção de um implante intravaginal de P4 (CIDR 1,9g) e 2 mg i.m. de benzoato de estradiol; D7 – 12,5 mg i.m. de dinoprost trometamina; D9 – CIDR foi retirado e aplicado 0,5 mg i.m. de cipionato de estradiol. No D9 as novilhas foram aleatoriamente distribuídas para receberem 0 (Controle; n = 994) ou 200 UI (eCG; n = 995) de eCG; D11 – IATF foi realizada. No Dia 9 e 11 um subgrupo de novilhas foi avaliado por ultrassonografia para determinar o diâmetro do maior folículo presente no ovário. Colheitas de sangue foram realizadas no Dia 9 e 18 para determinar a concentração circulante de progesterona. Variáveis contínuas foram analisadas utilizando o PROC MIXED e as variáveis binomiais o PROC GLIMMIX do SAS. Significância foi estabelecida quando P < 0,05. A concentração de progesterona no Dia 9 com maior especificidade e sensibilidade para taxa de prenhez foi 2,03 ng/mL. O diâmetro folicular no Dia 9 foi maior para novilhas CR (10,5 ± 0,09 mm) do que para novilha BI (9,6 ± 0,12 mm) e para BAIXA P4 (10,2 ± 0,12 mm) comparado a ALTA P4 (9,9 ± 0,12 mm). O diâmetro folicular no Dia 11 tendeu a ser maior para a BAIXA P4 (11,3 ± 0,11) do que ALTA P4 (10,9 ± 0,13 mm). Probabilidade de prenhez foi negativamente associada à concentração de P4 no Dia 9. A taxa de ovulação foi maior para o tratamento eCG comparado ao Controle (91,6% vs. 87,6%, respectivamente). Novilhas CR tiveram maior taxa de concepção (62,4 %

vs. 55,9%) e maior taxa de prenhez do que novilhas BI (57,2% vs. 51%). Novilhas do grupo BAIXA P4 tiveram maiores taxas de concepção e prenhez do que ALTA P4 (64,0 59,1% e 59,1, 49,1%, para BAIXA e ALTA P4, respectivamente). Diferenças de resposta fisiológica entre novilhas CR e BI sincronizadas com o mesmo protocolo de IATF foram observadas; independente da raça, baixa concentração circulante de P4 no Dia 9 do protocolo resultou em maior taxa de prenhez.

Palavras chave: *Bos indicus*; *Bos taurus* x *Bos indicus*; eCG; IATF; progesterona.

**Effect of breed, progesterone serum concentration and eCG treatment  
in *Bos indicus* and *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers submitted to a  
synchronization of ovulation protocol**

**ABSTRACT**

This study evaluates the effects of P4 level and eCG treatment in timed-AI in *Bos indicus* (BI) and *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR) heifers. Heifers used in the study (n = 1989) included BI (n = 992) and CR (n = 997) that were 14-24 mo of age (BCS:  $3.08 \pm 0.01$ , BW:  $329.09 \pm 0.66$  kg). Ovarian ultrasonography was performed twice (7 days apart) in all heifers at start of the study to identify heifers with a CL. Heifers with a CL were submitted to estrous synchronization and timed AI. Heifers without a CL in either ultrasonography were submitted to a puberty induction protocol (Rodrigues et al., 2014). Heifers with a detectable CL 12 days after puberty induction remained in the study. Timed-AI program was as follows: D0 – Insertion of an intravaginal P4 device (CIDR 1.9 g) and 2 mg of estradiol benzoate; D7 – 12.5 mg of dinoprost tromethamine; D9 – CIDR withdrawal and 0.5 mg of ECP. At D9 heifers were randomly assigned to receive either 0 (Control; n = 994) or 200 IU (eCG; n = 995) of eCG; D11 – timed AI was performed. On Days 9 and 11, a subgroup of heifers was evaluated by ultrasonography to record the largest follicular diameter. Blood sample was collected to evaluate progesterone serum concentrations at Day 9 and 18. Continuous variables were analyzed using the PROC MIXED and the binomial variables using the PROC GLIMMIX, from SAS. Significance set when  $P < 0.05$ . The progesterone concentration that has more sensibility and specificity for pregnancy at Day 9 was 2.03 ng/mL. Follicle diameter at D9 was greater for CR heifers ( $10.5 \pm 0.09$  mm) than BI heifers ( $9.6 \pm 0.12$  mm) and in Low P4 ( $10.2 \pm 0.12$  mm) compared to High P4 ( $9.9 \pm 0.12$  mm). The follicle diameter at D11 tended to be greater for Low P4 ( $11.3 \pm 0.11$  mm) than High P4 ( $10.9 \pm 0.13$  mm). Probability of pregnancy was negatively associated with P4 level at Day 9. Ovulation rate was greater for eCG compared to Control (91.6% vs 87.6%, respectively). Crossbred heifers had greater conception rate (62.4% vs 55.9%) and greater pregnancy rate than BI (57.2% vs 51.0%). LOW P4 heifers have greater conception and pregnancy rate than HIGH P4 (64.0, 59.1% and 59.1, 49.1%, for LOW and HIGH P4, respectively). Different physiologic responses between CR and BI heifers synchronized with the same timed AI program were observed and regardless of breed, low P4 environments resulted in increased pregnancy rates.

Keywords: *Bos indicus*; *Bos taurus* x *Bos indicus*; eCG; FTAI; progesterone.

## 1. Introdução

Taxas de prenhez à IATF em novilhas tem maior variação de resultados quando comparadas às de vacas não lactantes e lactantes [1,2], aparentemente devido a falhas na ovulação devido a folículos com menor diâmetro no momento da IATF [3]. Estratégias utilizadas para aumentar o diâmetro do folículo dominante e fertilidade em protocolos de IATF incluem: 1) Uso de eCG em animais com maiores concentrações de P4 durante o protocolo de sincronização (ex.: dispositivos de P4 novos; prostaglandina no dia da retirada do dispositivo em animais ciclando; [1,4]); 2) Uso de dispositivos de P4 que tenham sido previamente utilizados e que resultam em menores concentrações de P4 com o objetivo de aumentar a pulsatilidade de LH durante o protocolo [4,5]; 3) Antecipação da prostaglandina (PGF) em 2 dias [4] e 4) em novilhas induzidas, iniciar o protocolo de IATF 12 dias após o protocolo de indução [6], fazendo com que a regressão do CL ocorra por volta do dia 7 do protocolo [1,2,4-6]. Estas estratégias têm sido associadas ao melhor desenvolvimento do folículo dominante/ovulatório e fertilidade.

Diversos trabalhos relatam diferenças fisiológicas entre animais *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bos taurus* x *Bos indicus* [7-10]. Entretanto, estudos que avaliaram os diferentes grupos genéticos dentro do mesmo experimento são escassos. Randel [11] avaliou o perfil de liberação de LH e intervalo para ovulação em novilhas Brahman, Hereford e Brahman x Hereford, e relataram que animais Brahman tiveram menor pico de LH e maior intervalo para ovulação. Alvarez [12] comparou a dinâmica folicular e perfil endócrino em vacas Brahman, Senepol e Angus e observaram que vacas Brahman e Senepol tinham uma maior população folicular e CL com maior diâmetro do que vacas Angus. Novilhas Nelore apresentaram maior concentração de P4 e menor diâmetro folicular do que novilhas Angus x Nelore quando submetidas ao mesmo protocolo de IATF [13]. Contudo nenhum destes trabalhos avaliou a fertilidade desses diferentes grupos genéticos utilizando o mesmo protocolo de IATF.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da concentração de P4 ao final do protocolo e do tratamento com eCG no momento da retirada do dispositivo em novilhas de dois grupos genéticos (*Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus*) na taxa de prenhez em novilhas criadas a pasto e submetidas ao mesmo protocolo de IATF. As hipóteses do estudo são: 1) novilhas com alta concentração de P4 no final do protocolo de IATF têm menor taxa de prenhez a IATF; 2) novilhas não tratadas com eCG, e que apresentam alta concentração de P4 ao final do protocolo de IATF têm

menor taxa de prenhez em relação às tratadas e 3) novilhas *Bos indicus* têm menor taxa de prenhez em relação às novilhas *Bos indicus* x *Bos taurus* quando apresentam alta concentração de P4 ao final do protocolo de IATF.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Animais e localidade

Um total de 1.989 novilhas com idade entre 14 e 24 meses, ECC médio de  $3,08 \pm 0,01$  (1 = emaciada e 5 = obesa [14]) e peso corporal médio de  $329,10 \pm 0,66$  Kg, sendo 992 novilhas *Bos indicus* (BI) e 997 novilhas cruzas *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR) foram utilizadas neste estudo. As novilhas estavam alocadas em uma fazenda comercial no município de São Miguel do Araguaia – GO, em 12 pastos de *Brachiaria brizantha* e/ou *Andropogon gayanus* com livre acesso à água e mistura mineral. O experimento foi conduzido entre Janeiro e Maio de 2014.

### 2.2. Delineamento Experimental

As novilhas foram avaliadas por duas vezes consecutivas com intervalo de dez dias por meio de exame ovariano ultrassonográfico para determinar a presença de CL. Novilhas sem presença de CL em ambas as avaliações foram consideradas como pré-púberes e novilhas detectadas com CL foram consideradas púberes. No Dia -24 todas as novilhas pré-púberes receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9g de P4 (CIDR<sup>®</sup>, Zoetis, São Paulo, Brasil) para indução de ovulação. No Dia -12 o dispositivo foi removido e as novilhas tratadas com 0,6 mg de cipionato de estradiol (0,3 mL, E.C.P.<sup>®</sup>, Zoetis). No Dia 0 as novilhas que responderam ao protocolo de indução (presença de CL no Dia 0) receberam um CIDR previamente utilizado por 2 vezes (9 dias cada) e 2,0 mg de benzoato de estradiol (2,0 mL, Gonadiol<sup>®</sup>, Zoetis). No Dia 9, todas as novilhas receberam tratamento com 12,5 mg de dinoprost trometamina (PGF, 2,5 mL, Lutalyse<sup>®</sup>, Zoetis), 0,3 mL de E.C.P.<sup>®</sup> e o CIDR<sup>®</sup> foi retirado. Ainda no Dia 9, as novilhas foram aleatoriamente distribuídas, dentro de cada raça, para receberem 0 ou 200 UI de eCG. A IATF foi realizada 48 horas após a remoção do dispositivo do

CIDR® no Dia 11. As novilhas púberes receberam o mesmo tratamento descrito acima, iniciando no Dia 0, com o tratamento de PGF ocorrendo no Dia 7 (Figura 1).

### 2.3. Avaliações Ultrassonográficas

As novilhas foram submetidas a avaliações ultrassonográficas (Mindray – 2200VET DP; Mindray Bio-Medical Electronics Co., Shenzhen, China) nos Dias -34, -24, 0 (apenas novilhas induzidas) para avaliar a presença de CL, nos Dias 9 e 11 para avaliar o diâmetro do maior folículo presente no ovário (média dos diâmetros perpendiculares) e para o diagnóstico de gestação realizado 30 dias após a IATF, no Dia 41.

### 2.4. Colheita de Sangue para dosagem de progesterona

Amostras de sangue foram colhidas no Dia 9 (concomitante com a retirada do CIDR; apenas nos animais avaliados por US) e no Dia 18 (7 dias após a IATF) da veia coccígea em tubos vacutainer (10 mL; Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, EUA). Após a colheita, os tubos foram imediatamente colocados em gelo, mantidos a temperatura de 4°C por 12 horas e centrifugados a 1500g por 15 minutos em temperatura ambiente para a colheita do soro. O soro foi armazenado a -20°C para subsequente análise da concentração de P4. Concentrações séricas de P4 foram determinadas utilizando kit de radioimunoensaio de fase sólida (Coat-a-count; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) de acordo com as especificações do fabricante. A sensibilidade do ensaio foi de 0,04 ng/mL e coeficiente de variação inter-ensaio foi de 3,6% e intra-ensaio de 1,5%.

### 2.5. Análise Estatística

Os dados foram analisados como um delineamento completamente ao acaso. Análise através da curva ROC foi utilizada para determinar a concentração de P4 no Dia 9 que resultasse na maior sensibilidade e especificidade para predição da prenhez. A partir do valor obtido com a curva ROC foram determinados dois grupos de animais classificados como ALTA e BAIXA P4.

As variáveis binomiais dependentes foram analisadas pelo PROC GLIMMIX do SAS (SAS Institute Inc.) com aproximação SATTERRHWAITE para determinar os graus de liberdade para os testes dos efeitos fixos. Os efeitos de pasto, raça, ciclicidade prévia, tratamento com eCG, classe de P4, inseminador, touro e interações apropriadas foram considerados nos modelos preliminares para análise das variáveis binomiais dependentes. As variáveis contínuas (ex.: concentração de P4 e diâmetro folicular) foram analisadas pelo PROC MIXED do SAS (SAS Institute Inc.) com aproximação SATTERRHWAITE para determinar os graus de liberdade para os testes dos efeitos fixos e foram considerados nos modelos preliminares os efeitos de raça, ciclicidade prévia, tratamento com eCG e devidas interações. Quando necessário, as variáveis contínuas foram correlacionadas utilizando o procedimento de PEARSON no PROC CORR do SAS (SAS Institute Inc.). Para formação dos modelos finais, as variáveis não significativas foram removidas quando  $P > 0,2$  (critério de Wald). Os resultados foram reportados como a média dos quadrados mínimos.

A taxa de ovulação foi calculada utilizando as novilhas que tinham concentração de P4 acima de 1 ng/mL no Dia 18 (7 dias após a IA). A taxa de concepção foi calculada dividindo o número de novilhas prenhes pelo total de novilhas ovuladas e a taxa de prenhez foi calculada dividindo o número de novilhas prenhes pelo total de novilhas tratadas.

A probabilidade das novilhas se tornarem gestantes à IATF foi avaliada de acordo com a concentração de P4 no Dia 9, diâmetro do folículo pré-ovulatório no Dia 9 e 11 e concentração de P4 no Dia 18. O PROC GLM do SAS (SAS Institute Inc.) foi inicialmente utilizado para determinar se cada variável individualmente influenciou a prenhez de maneira linear, quadrática ou cúbica, em seguida foram gerados os modelos de regressão, determinando os valores do coeficiente linear e coeficiente angular de acordo com a probabilidade máxima estimada para cada efeito e a probabilidade de concepção foi determinada de acordo com a seguinte equação:  $\text{Probabilidade} = (e^{a \cdot x + b}) / (1 + e^{a \cdot x + b})$ .

Para todas as análises, diferenças foram consideradas significantes quando  $P \leq 0,05$ , enquanto que tendências foram consideradas quando  $P \leq 0,1$  e  $> 0,05$ .

### **3. Resultados**

De acordo com a curva ROC, o valor de P4 que obteve maior sensibilidade e especificidade na prenhez a IATF foi 2,03 ng/mL. Sendo assim, as novilhas com

concentração de P4 menor ou igual a 2,03 no Dia 9 do protocolo de IATF foram consideradas com sendo BAIXA P4 e novilhas com concentração de P4 maior que 2,03 ng/mL no Dia 9 foram consideradas como sendo ALTA P4.

A ciclicidade antes do protocolo de IATF (pré-púbere ou púbere) não influenciou em nenhuma das variáveis analisadas no estudo; Além disso nenhuma interação entre o status de puberdade e tratamento com eCG ou raça foi detectado no estudo. A concentração de P4 foi maior ( $P < 0,05$ ) para novilhas CR ( $2,59 \pm 0,04$  ng/mL) do que para as novilhas BI ( $2,32 \pm 0,04$  ng/mL)

O diâmetro folicular no Dia 9 foi diferente entre as raças ( $P < 0,05$ ) e classe de P4 ( $P < 0,05$ ), entretanto não diferiu entre tratamento com a eCG ( $P > 0,10$ ) como pode ser observado na tabela 1. Já no momento da IATF (Dia 11) o diâmetro do maior folículo presente no ovário foi influenciado apenas pela classe de P4 no Dia 9 ( $P < 0,10$ ) não sendo diferente entre raça ( $P > 0,10$ ) e tratamento com eCG ( $P > 0,10$ ; Tabela 1).

De acordo com análise de regressão entre as variáveis contínuas, observou-se que o diâmetro folicular no Dia 11 foi influenciado de maneira linear e positiva pelo diâmetro folicular no Dia 9 (Figura 2). A concentração de P4 no Dia 18 (7 dias após a IA) foi correlacionada com o diâmetro folicular no Dia 11 (Figura 3).

A probabilidade da novilha em se tornar gestante à IATF foi influenciada de maneira quadrática pelo diâmetro folicular no Dia 9 ( $P < 0,05$ ) e 11 ( $P < 0,05$ ; Figura 4); já a concentração de P4 no Dia 9 influenciou negativamente ( $P < 0,05$ ) a probabilidade de concepção à IATF (Figura 5 e 6).

A taxa de ovulação não foi influenciada pela raça ( $P > 0,10$ ; Figura 7) ou pela classe de P4 no Dia 9 ( $P > 0,10$ ; Figura 8), entretanto novilhas que receberam eCG ( $P < 0,05$ ) no Dia 9 tiveram maior taxa de ovulação (Figura 9). A taxa de concepção à IATF foi maior para novilhas CR quando comparadas as novilhas BI ( $P < 0,05$ ; Figura 7) e maior para novilhas com Baixa P4 em comparação as novilhas com Alta P4 no Dia 9 ( $P < 0,05$ ; Figura 8), contudo, não houve efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção ( $P > 0,10$ ; Figura 9). A taxa de prenhez à IATF não diferiu entre as novilhas tratadas ou não com eCG ( $P > 0,10$ ; Figura 9), mas foi maior para novilhas CR em comparação às novilhas BI ( $P < 0,05$ ; Figura 7), sendo diferente também entre as novilhas com BAIXA ou ALTA P4 no Dia 9 ( $P < 0,05$ ; Figura 8).

#### 4. Discussão

Conforme demonstrado no capítulo 2 da presente tese, novilhas que respondem ao protocolo de indução de puberdade apresentam mesma fertilidade comparadas às novilhas que estavam previamente ciclando. Desta forma, a ciclicidade prévia não alterou nenhuma das variáveis estudadas, bem como não teve nenhuma relação com a raça ou tratamento com eCG. Os resultados deste estudo, assim como os relatados no capítulo 2, corroboram Claro Jr et al. [15], que demonstraram que novilhas induzidas com CIDR de 4º uso, detectadas em cio e inseminadas, tiveram a mesma taxa de concepção em relação às aquelas novilhas que já estavam púberes no início do período experimental (46,8 vs. 43,8%, respectivamente).

A probabilidade de concepção à IATF foi afetada de acordo com o diâmetro folicular no Dia 9 e 11 (Figura 4), de modo que novilhas com folículos pequenos (< 10 mm) ou muito grandes (> 15 mm) tiveram fertilidade reduzida. Nesse sentido, sabe-se que quando folículos pequenos foram induzidos a ovular resultaram em menor fertilidade em novilhas e vacas *Bos taurus* [16, 17], novilhas *Bos indicus* [3, 4] e vacas leiteiras [18]. Uma possível razão para essa baixa fertilidade é que folículos pequenos originam um menor CL, que produz menores concentrações de P4 no diestro subsequente [19] e concentrações adequadas de P4 durante esse período são fundamentais para estimular a secreção das glândulas endometriais [20], desenvolvimento embrionário [21, 22] e reconhecimento materno e manutenção da gestação [23, 24].

Em contrapartida, conforme mencionado anteriormente, novilhas que ovularam folículos muito grandes também tiveram redução na fertilidade, e este comportamento já foi descrito em novilhas e vacas *Bos taurus* [17, 18] e *Bos indicus* [3], tendo como possível explicação a ocorrência de folículos persistentes, geralmente caracterizados como folículos de diâmetro acima do esperado para folículos ovulatórios, com considerável diminuição na qualidade oocitária [25-28].

Protocolos de IATF em novilhas ciclando devem proporcionar um ambiente que favoreça o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório [3,5], por meio de menores concentrações de P4 ou fornecendo um suporte gonadotrófico exógeno [4]. O diâmetro folicular no Dia 9 foi maior para as novilhas com BAIXA P4 no Dia 9 (10,45 mm) do que nas novilhas com ALTA P4 (9,57 mm). A concentração de P4 possui uma relação inversa com o LH. Altas concentrações de P4 suprimem a pulsatilidade de LH,

diminuindo o desenvolvimento ou ocasionando a atresia do folículo dominante [29]. Por outro lado, concentrações subluteais de P4 estimulam a pulsatilidade de LH [30], e também como demonstrado por Dias [31], folículos que se desenvolveram em ambiente com alta P4 apresentam menor expressão de mRNA do receptor de LH. Martins et al. [3] demonstraram que novilhas sincronizadas com CIDR de 1º uso tiveram menor diâmetro folicular no Dia 7 e 9 do tratamento em relação as novilhas com CIDR de 3º uso. No estudo de Rodrigues et al. [6] novilhas que tiveram luteólise espontânea ao redor do Dia 5 e 7 do protocolo também tiveram maior diâmetro folicular no D9 em relação às novilhas com luteólise mais próxima do Dia 9 e, recentemente, Dias [31] mostrou que novilhas com BAIXA P4 apresentaram maior diâmetro folicular do que novilhas com ALTA P4 (1,72 ng/mL e 12,66 mm e 8,34 ng/mL e 9,45 mm, respectivamente).

A utilização de eCG tem sido associada com maiores taxas de fertilidade em vacas lactantes [2], não lactantes [4] e novilhas [4, 5]. Entretanto, no presente estudo, o uso do eCG não influenciou o diâmetro folicular ou as taxas de concepção e prenhez, tendo um efeito positivo apenas na taxa de ovulação. A hipótese inicial do estudo era que em novilhas com maior concentração de P4 a utilização da eCG diminuiria o efeito negativo da alta P4, conforme demonstrado por Peres et al. [4] em vacas não lactantes, entretanto essa relação não foi detectada no estudo.

Independente do tratamento com a eCG, a concentração de P4 afetou negativamente a probabilidade de concepção (Figura 5), conforme já demonstrado por diversos outros trabalhos em novilhas *Bos indicus* [3, 6], vacas não lactantes [4] e em vacas holandesas [32]. Folículos pré-ovulatórios que se desenvolveram em ambiente com maiores concentrações de P4 apresentam menor expressão de mRNA do receptor de LH e da enzima aromatase nas células da granulosa, assim como menor concentração de estradiol intrafolicular [31]. O estradiol atua na fertilidade [18, 27], transporte espermático [33], ambiente uterino [34, 35] e formação do CL subsequente [19].

Este efeito deletério da P4 parece ser mais evidente nas novilhas BI pois o diâmetro folicular no Dia 9 foi menor (9,57 mm) em relação às novilhas CR (10,45 mm) que apresentaram maiores concentrações médias de P4 no Dia 9 do que novilhas BI (2,59 vs. 2,32 ng/mL, para CR e BI, respectivamente) e também mais acentuado na fertilidade, como observado na figura 6 e nas taxas de prenhez no experimento 2. Novilhas Nelore e Nelore x Angus sincronizadas com o mesmo protocolo também

apresentaram diferenças no diâmetro folicular no momento da retirada do dispositivo, bem como na taxa de ovulação [13], o que não foi observado neste estudo. Contudo, no estudo de Carvalho [13], o maior diâmetro folicular nas novilhas cruzadas foi relacionado à menor concentração de P4 durante o tratamento com CIDR.

Novilhas cruzadas apresentam diferenças em relação as novilhas Nelore como duração do cio [7], diâmetro do folículo ovulatório e diâmetro do CL [8, 9]. Entretanto, são poucos os trabalhos na literatura que comparam estes animais dentro das mesmas condições. Randel [11], comparou a liberação de LH e tempo de ovulação em novilhas Brahman, Hereford e Brahman x Hereford, e relatou que novilhas Brahman tiveram menor concentração de LH do que novilhas Hereford ou Brahman x Hereford, o que explicaria o menor diâmetro folicular encontrado nas novilhas BI. Entre vacas Brahman, Angus e Senepol que tiveram o ciclo estral avaliado após sincronização de estro, não houve diferenças no perfil endócrino. Entretanto as vacas Brahman e Senepol apresentaram maior população folicular e maiores diâmetros de folículo e corpo lúteo [12]. Contudo, vale ressaltar que este estudo foi desenvolvido no estado da Florida-EUA em uma região tropical, o que pode ter influenciado a fisiologia das vacas Angus.

Novilhas cruzadas *Bos taurus* x *Bos indicus* e *Bos indicus* responderam fisiologicamente diferente ao protocolo de IATF. As hipóteses iniciais do estudo foram parcialmente aceitas. 1) novilhas com ALTA P4 tiveram menor taxa de prenhez em relação as novilhas com BAIXA P4 no Dia 9 do protocolo; 2) não houve efeito do eCG independente da concentração de P4 no Dia 9 e 3) novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* aparentam ter maior tolerância aos efeitos negativos das maiores concentrações de P4. São necessários mais estudos para entender se essa diferença de resposta está associada a nível hipotalâmico (ex.: liberação de GnRH/LH) ou a nível gonadal (ex.: folículo), e assim ajustar o protocolo de acordo com o grupo genético. Mais estudos são necessários para compreender os eventos fisiológicos que modulam a fertilidade em novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* e *Bos indicus*.

### **Agradecimentos**

À Zoetis por toda a colaboração, à Fazenda Panamá e Grupo Campo Vitória por permitirem o uso dos animais e locações e ao CNPq e à FAPESP (Processo nº 2014/05270-9) pela concessão da bolsa de estudos.

## 5. Referências

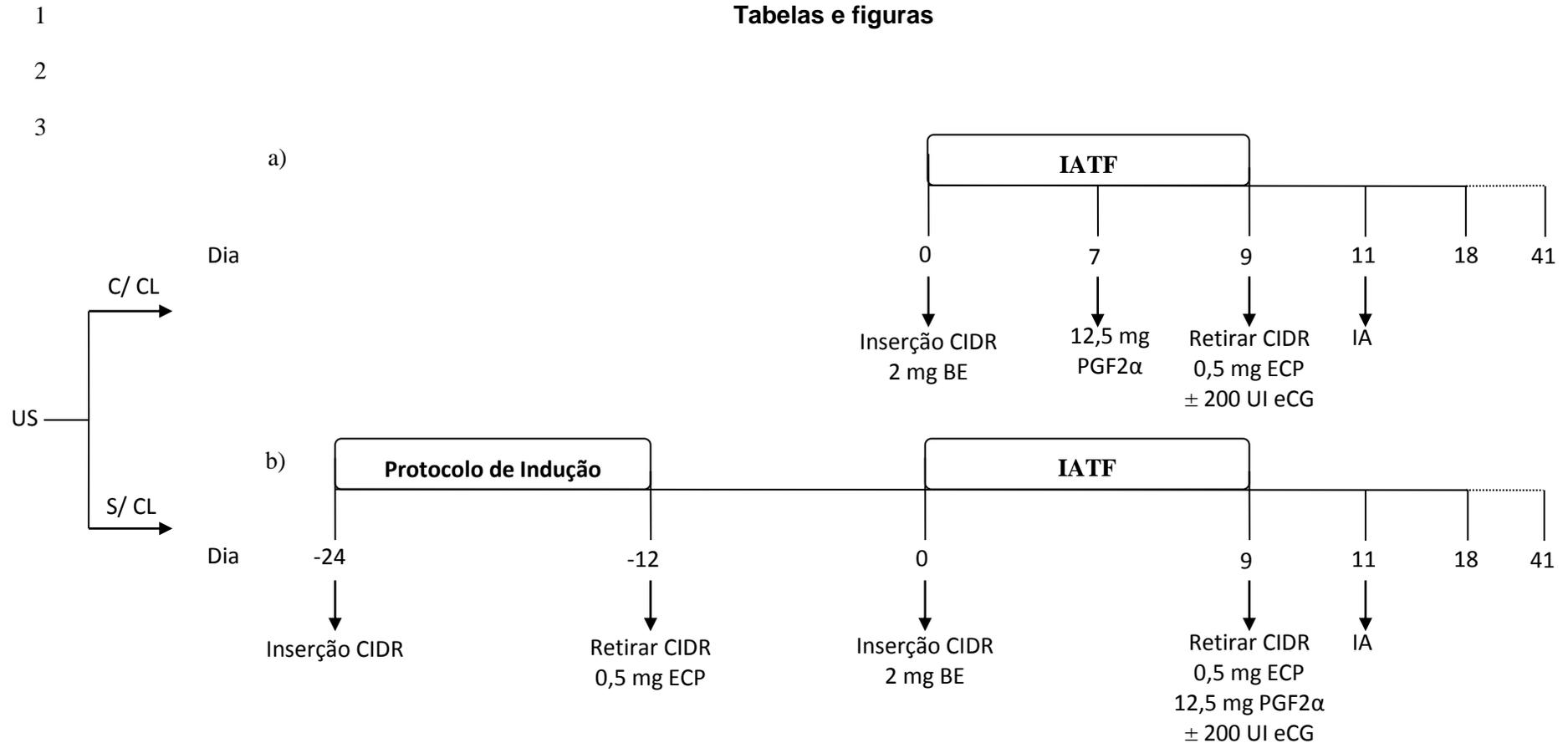
- [1] Meneghetti M, Sá Filho OG, Peres RF, Lamb GC, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. *Theriogenology*. 2009;72:179-89.
- [2] Sá Filho O, Meneghetti M, Peres R, Lamb G, Vasconcelos J. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 2009;72:210-8.
- [3] Martins T, Peres RFG, Rodrigues ADP, Pohler KG, Pereira MHC, Day ML, et al. Effect of progesterone concentrations, follicle diameter, timing of AI and ovulatory stimulus on pregnancy rate to synchronized AI in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2014; 81:446-453.
- [4] Peres RF, Claro I, Sá Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JL. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*. 2009;72:681-9.
- [5] Dias CC, Wechsler FS, Day ML, Vasconcelos JL. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2009;72:378-85.
- [6] Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Carvalho ER, Day ML, Vasconcelos JLM. Effect of interval from induction of puberty to initiation of a timed AI protocol on pregnancy rates in Nelore heifers. *Theriogenology*. 2014; 82:760-66.
- [7] Bó GA; Barusseli PS, Martinez MF. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*. 2003;78:307-326.
- [8] Figueiredo RA, Barros CM, Pinheiro OL, Soler JMP. Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*Bos indicus*) cattle. *Theriogenology*. 1997;47:1489-1505.
- [9] Sartori R, Haughian JM, Shaver RD, Rosa GJM, Wiltbank MC. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein and Lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 2004;87:905-920.
- [10] Gimenes LU, Sa Filho MF, Carvalho NAT, Torres JRS, Souza AH, Madureira EH et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. 2008; 69:852-8.

- [11] Randel RD, LH and ovulation in Brahman, Brahman x Hereford and Hereford heifers. *Journal of Animal Science*. 1976, 43: 300-1.
- [12] Alvarez P, Spicer LJ, Chase Jr CC, Payton ME, Hamilton TD, Stewart RP, Hammond AC, Olson TA, Wettemann RP. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in subtropical environment. *Journal of Animal Science*. 2000;78:1291-1302.
- [13] Carvalho JB, Carvalho NA, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:167-75.
- [14] Houghton P, Lemenager R, Moss G, Hendrix K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *Journal of animal science*. 1990;68:1428-37.
- [15] Claro Junior I, Peres RFG, Aono FHS, Day ML, Vasconcelos JLM. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology* 2010;74:903-11.
- [16] Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF<sub>2</sub> $\alpha$  from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*. 2008;69:843-51.
- [17] Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 2007;85:684-9.
- [18] Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, et al. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102:5268.
- [19] Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 2001;56:307-14.
- [20] Mann G, Lamming G. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 1999;34:269-74.
- [21] Geisert RD, Short EC, Zavy MT. Maternal recognition of pregnancy. *Animal Reproduction Science*. 1992;28:287-98.

- [22] Garrett JE, Geisert RD, Zavy MT, Morgan GL. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J Reprod Fertil.* 1988;84:437-46.
- [23] Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl.* 1999;54:317-28
- [24] Roberts RM, Xie S, Mathialagan N. Maternal recognition of pregnancy. *Biol Reprod.* 1996;54:294-302.
- [25] Kinder JE, Kojima FN, Bergfeld EG, Wehrman ME, Fike KE. Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science.* 1996;74:1424-40.
- [26] Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology.* 1993;132:1108-14.
- [27] Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. *Theriogenology.* 2001;56:307-314.
- [28] Ahmad N, Schirick FN, Butcher RL, Inskeep EK. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cattle. *Biology of Reproduction.* 1995; 52: 1129-1135.
- [29] Kojima FN, Bergfeld EGM, Wehrman ME, Cupp AS, Fike KE, Mariscal-Aguayo DV et al. Frequency of luteinizing hormone pulses in cattle influences duration of persistence of dominant ovarian follicles, follicular fluid concentrations of steroids, and activity of insulin-like growth factor binding proteins. *Animal Reproduction Science.* 2003;77:187-211.
- [30] Pfeifer LFM, Mapletoft RJ, Kastelic JP, Small JA, Adams GP, Dionello NJ, et al. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. *Theriogenology.* 2009;72:1237-50.
- [31] Dias HP. Efeito da progesterona na expressão do mRNA do receptor de LH e enzimas esteroidogênicas reguladoras do desenvolvimento folicular em células da granulosa de novilhas Nelore. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. UNESP. 2015.

- [32] Pereira MHC, Sanches CP, Guida TG, Rodrigues ADP, Aragon FL, Veras MB, Borges PT, Wiltbank MC, Vasconcelos JLM. Timing of prostaglandin F2 $\alpha$  treatment in an estrogen-based protocol for timed artificial insemination or timed embryo transfer in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 2012;96:2837-2846.
- [33] Hawk HW, Cooper BS. Improvement of Sperm Transport by the Administration of Estradiol to Estrous Ewes. *Journal of Animal Science*. 1975;41:1400-6.
- [34] Perry GA, Perry BL. Effects of standing estrus and supplemental estradiol on changes in uterine pH during a fixed-time artificial insemination protocol. *Journal of Animal Science*. 2008;86:2928-35.
- [35] Bridges G, Mussard M, Pate J, Ott T, Hansen T, Day M. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Animal Reproduction Science*. 2012.

## Tabelas e figuras

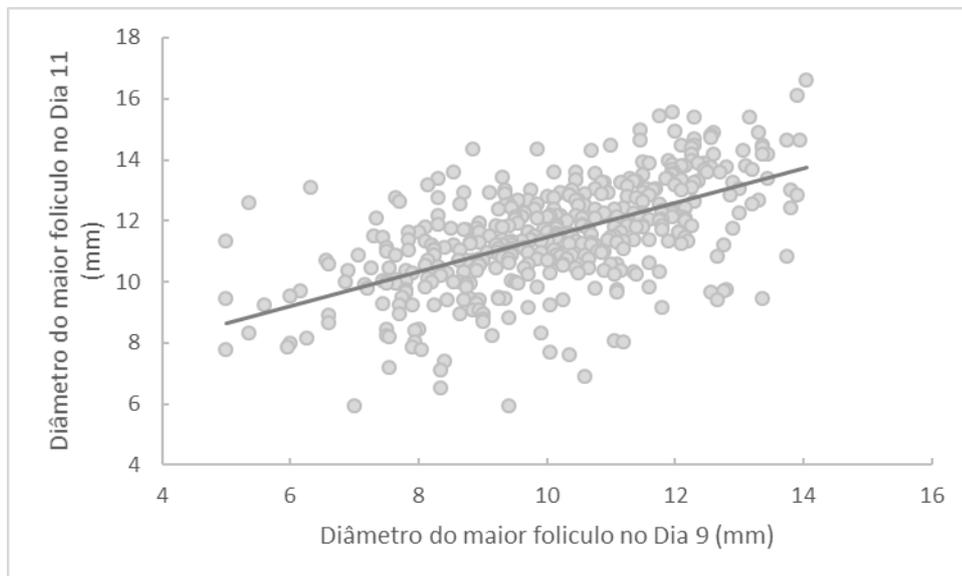


**Figura 5** – Diagrama do delineamento experimental – a) Novilhas com CL na primeira avaliação: D 0: Início do Protocolo de IATF, Inserção de dispositivo intravaginal de P4 e aplicação de 2mg de benzoato de estradiol; D 7: aplicação 12,5 mg de dinoprost trometamina; D 9: Retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol, 12,5 mg de dinoprost trometamina e distribuição aleatória das novilhas para receberem 0 ou 200 UI de eCG; D11: Inseminação Artificial. b) Novilhas Tratadas com protocolo de indução: D 24: Inserção de dispositivo intravaginal de P4; D -12: Retirada do dispositivo a aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol; D 0: Início do Protocolo de IATF, Inserção de dispositivo intravaginal de P4 e aplicação de 2mg de benzoato de estradiol; D 9: Retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 0,5 mg de cipionato de estradiol, 12,5 mg de dinoprost trometamina e distribuição aleatória das novilhas para receberem 0 ou 200 UI de eCG; D11: Inseminação Artificial.

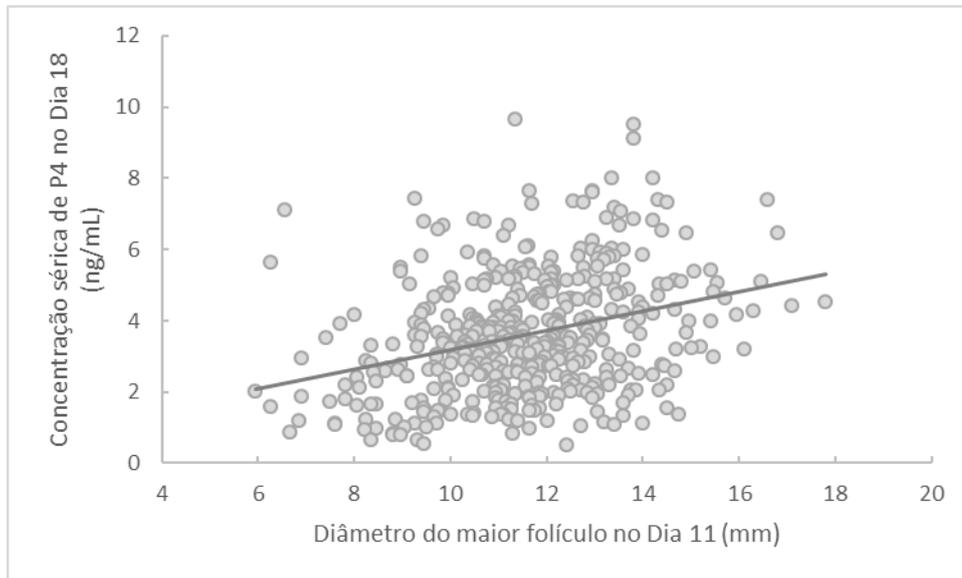
**US** – Avaliação por ultrassonografia para determinar a presença de CL no D 0, mensuração do maior folículo presente nos ovários no D 9 e 11 e diagnóstico gestacional no D 41; **SG** – Colheita de sangue para dosagem sérica de progesterona no D 9 e 18.

**Tabela 1** - Diâmetro folicular no Dia 9 e 11 do protocolo de IATF de acordo com o grupo genético, tratamento com eCG e nível de P4 no Dia 9 em novilhas submetidas ao protocolo para sincronização da ovulação.

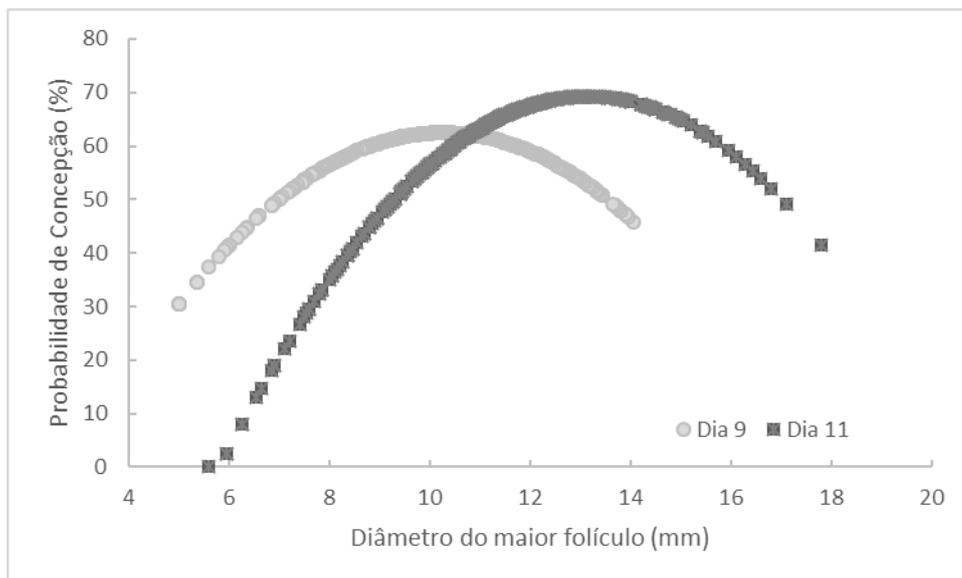
	Diâmetro Folicular no D 9 (mm)		Diâmetro Folicular no D 11 (mm)	
Raça		P-Value		P-Value
CR	10,45 ± 0,09	<0,0001	11,12 ± 0,12	0,6731
BI	9,57 ± 0,12		11,19 ± 0,13	
<b>eCG</b>				
0 UI	10,03 ± 0,11	0,7959	11,11 ± 0,12	0,6252
200 UI	9,99 ± 0,11		11,20 ± 0,13	
<b>Nível P4</b>				
Baixa	10,16 ± 0,10	0,0507	11,33 ± 0,11	0,0576
Alta	9,86 ± 0,12		10,98 ± 0,14	



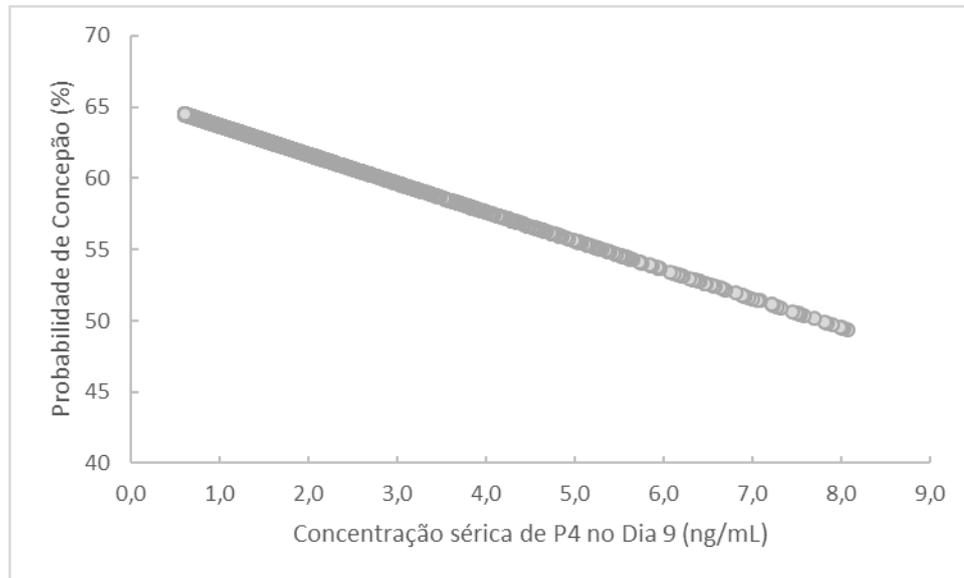
**Figura 2** – Correlação entre o diâmetro do maior folículo no Dia 9 e o diâmetro do maior folículo no Dia 11.



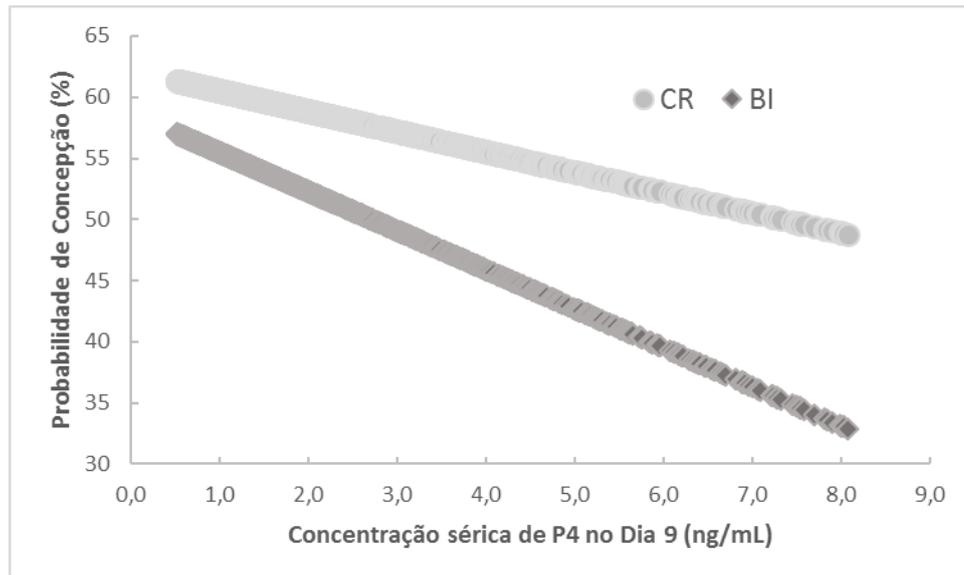
**Figura 3** – Correlação entre a concentração sérica de P4 no Dia 18 (7 dias após a IA) e o diâmetro do maior folículo no Dia 11 (IA).



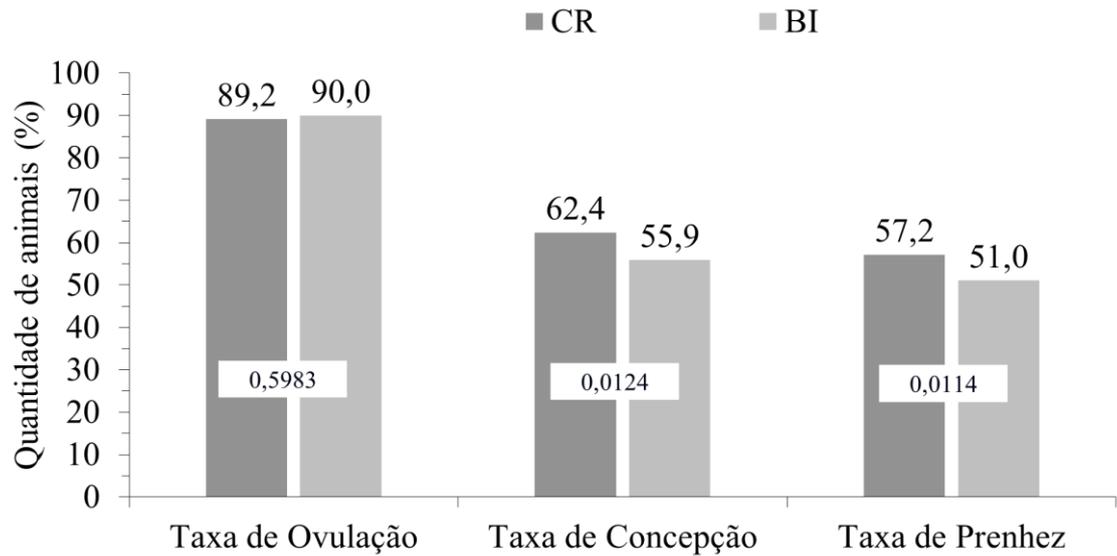
**Figura 4** – Efeito do diâmetro do maior folículo presente no ovário no Dia 9 ou Dia 11 na probabilidade de concepção a IATF.



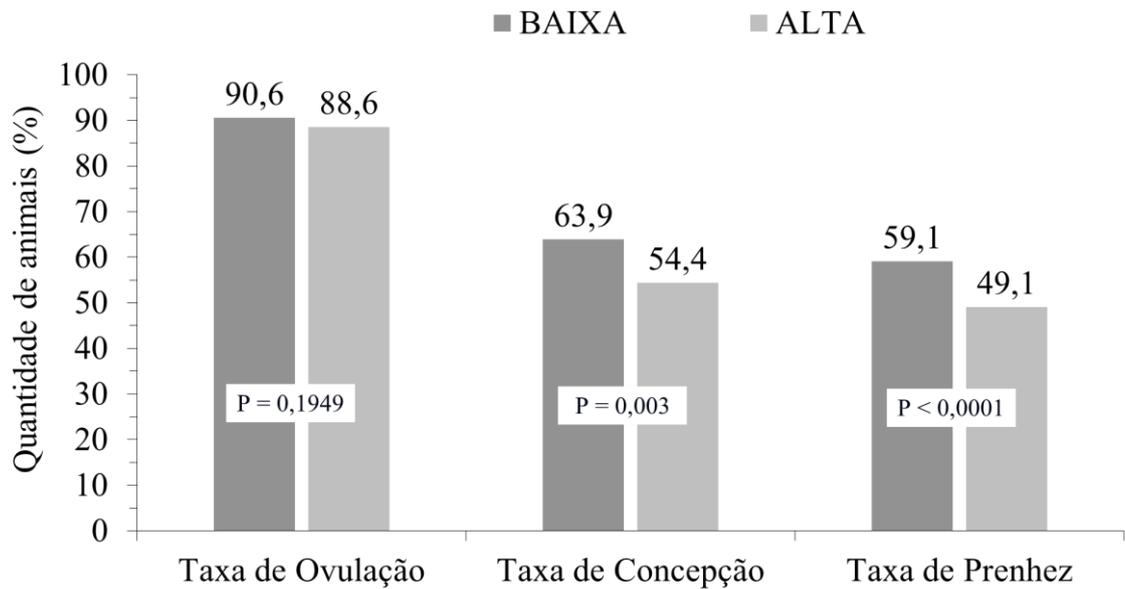
**Figura 5** – Efeito da concentração sérica de progesterona no momento da retirada do dispositivo (Dia 9) na probabilidade de concepção.



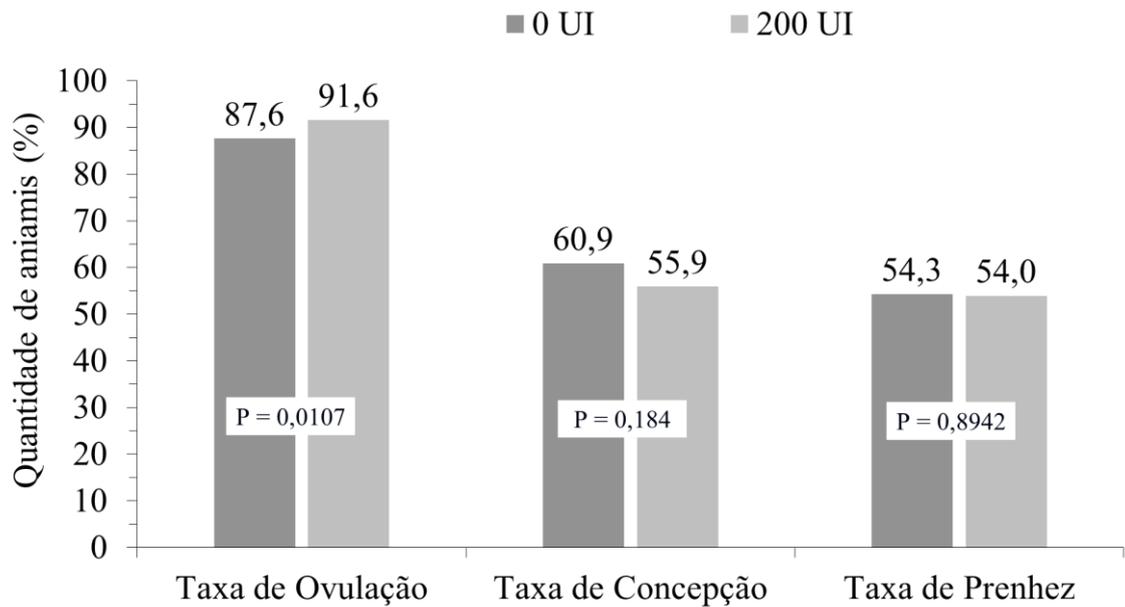
**Figura 6** – Efeito da concentração sérica de progesterona no momento da retirada do dispositivo (Dia 9) na probabilidade de concepção em novilhas *Bos indicus* (BI) e *Bos taurus* x *Bos indicus* (CR).



**Figura 7** – Taxa de Ovulação, Taxa de Concepção e Taxa de Prenhez a IATF em novilhas Bos indicus (BI) e novilhas Bos taurus x Bos indicus (CR) submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação.



**Figura 8** - Taxa de Ovulação, Taxa de Concepção e Taxa de Prenhez a IATF em novilhas classificadas de acordo com a concentração sérica de P4 em Baixa ( $\leq 2,03$  ng/mL) e Alta ( $> 2,03$  ng/mL) submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação.



**Figura 9**– Taxa de Ovulação, Taxa de Concepção e Taxa de Prenhez a IATF em novilhas que receberam 0 ou 200 UI de eCG no momento da retirada do CIDR (Dia 9) em novilhas submetidas ao mesmo protocolo de sincronização da ovulação.

## **CAPÍTULO 5**

### **CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES**

## **Conclusões Gerais e Implicações**

O objetivo da pecuária de corte é a produção de bezerros e dentro deste cenário é de extrema importância que as matrizes fiquem prenhes o quanto antes na estação de monta. Apesar de serem a categoria animal com a melhor genética, as novilhas ainda são um grande desafio em relação à eficiência reprodutiva. Entender os mecanismos fisiológicos que impedem que uma novilha fique gestante é de fundamental importância para a melhoria dos índices reprodutivos dessa categoria.

O presente estudo demonstrou que é possível induzir a primeira ovulação em novilhas pré-púberes *Bos indicus* e *Bos taurus* x *Bos indicus*, e realizar o protocolo de IATF logo após a indução, sendo que o protocolo apresenta bons resultados em novilhas de 12 a 27 meses de idade, desde que atendidas as exigências nutricionais.

Além disso, com as respostas obtidas até aqui, é possível sugerir a utilização desta estratégia reprodutiva de 35 dias em todas as novilhas da propriedade, independentemente de estarem ou não púberes. Entretanto, a resposta ao protocolo de indução influencia a taxa de prenhez no protocolo de IATF subsequente.

Pôde-se também observar que novilhas *Bos taurus* x *Bos indicus* e *Bos indicus* respondem de maneira diferente ao mesmo protocolo de IATF, o que nos faz concluir que compreender as particularidades fisiológicas de cada grupo genético é de fundamental importância para elevar a eficiência reprodutiva destes animais. A utilização de novilhas cada vez mais precoces consiste em uma nova e segura alternativa para os produtores melhorarem o retorno financeiro da atividade; protocolos hormonais que permitam a otimização da mão-de-obra/operacional, bem como contribuam para a fertilidade dessas novilhas são de vital importância para viabilizar melhores resultados econômicos.