

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

**Efeito de protocolos de sincronização de ovulação na
taxa de prenhez em vacas leiteiras mestiças mantidas a
pasto no verão**

WAGNER RODRIGUES GARCIA

Dissertação apresentada ao programa
de Pós-Graduação em Zootecnia –
Área de Concentração: Nutrição e
Produção Animal, como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre.

BOTUCATU – SP

Julho – 2003

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

**Efeito de protocolos de sincronização de ovulação na
taxa de prenhez em vacas leiteiras mestiças mantidas a
pasto no verão**

WAGNER RODRIGUES GARCIA
Médico Veterinário

ORIENTADOR: Prof. Ass. Dr. JOSÉ LUÍZ MORAES VASCONCELOS

Dissertação apresentada ao programa
de Pós-Graduação em Zootecnia –
Área de Concentração: Nutrição e
Produção Animal, como parte das
exigências para obtenção do título de
Mestre.

BOTUCATU – SP

Julho – 2003

Dedicatória

Esta dissertação é dedicada com amor a minha querida Karin, que me encorajou, incentivou e me forneceu um suporte interminável em todos momentos; a meus irmãos Olívia e Daniel pelo amor, incentivo e amizade; e principalmente aos meus pais, Alcides e Hélia, que foram uma grande fonte de amor e inspiração.

AGRADECIMENTOS

- Aos colegas Alfredo Carrijo e Maria Paula pela grande amizade, incentivo e principalmente pela motivação na realização deste trabalho.
- À Universidade Estadual Paulista, UNESP – Campus Botucatu, pela oportunidade de realização deste curso.
- A CAPES, pela bolsa de estudo.
- Ao Prof. Francisco Stefano Wechsler, pela amizade e orientação nas análises estatísticas.
- À Agropecuária CFM (Fazenda São Pedro) e seus funcionários: Andrew Jones, Deni, Zequinha, Marivaldo e a todos outros amigos que muito colaboraram à realização deste trabalho.
- A Conapec Jr, pela contribuição fundamental à realização deste trabalho, em especial aos colegas: Alexandre, Elena, Mauro, Reinaldo, Mário e Heloisa e aos colegas da pós-graduação: Ricarda, Gabriela e Felipe.
- Aos funcionários José Luis Barbosa de Souza e Solange Aparecida Ferreira de Souza DPEA-FMVZ-UNESP, pela colaboração na realização deste trabalho.
- Às funcionárias da Seção de Pós-Graduação da FMVZ, posto de Serviço – Lageado, Carmen Sílvia de Oliveira Pólo e Seila Cristina Cassineli Vieira, pela amizade, atenção e auxílio prestados.
- Aos professores do curso, pela minha formação.
- Aos colegas do curso, pela convivência.
- A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT.....	xv
1. INTRODUÇÃO e OBJETIVOS	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1 Dinâmica folicular, ovulação e luteólise	2
2.2 Fatores relacionados à eficiência reprodutiva pós-parto	5
2.2.1 Anestro	5
2.2.2 Estresse térmico	7
2.3 Protocolos Hormonais	8
2.3.1 Sincronização de estro	8
2.3.2 Sincronização de ovulação	9
2.4 Hipótese	13
3. MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 EXPERIMENTO I	14
3.1.1 Período de realização e animais	14
3.1.2 Avaliação da condição corporal, diagnóstico da atividade ovariana e de gestação	15
3.1.3 Detecção de estro e inseminação artificial.....	16
3.1.4 Tratamentos	17
3.1.4.1 Grupo Controle	17
3.1.4.2 Protocolo GP+CIDR.....	17

3.1.4.3	Protocolo ECPSynch+CIDR.....	18
3.1.4.4	Protocolo Ovsynch+CIDR.....	19
3.1.5	Análise Estatística	20
3.2	EXPERIMENTO II	21
3.2.1	Período de realização e animais	21
3.2.2	Avaliação da condição corporal, diagnóstico da atividade ovariana e de gestação	21
3.2.3	Detecção de estro e inseminação artificial.....	22
3.2.4	Tratamentos	22
3.2.4.1	Grupo Controle	22
3.2.4.2	Protocolo GP+CIDR.....	22
3.2.4.3	Protocolo ECPSynch+CIDR.....	23
3.2.4.4	Protocolo Ovsynch+CIDR.....	24
3.2.5	Análise Estatística	24
4.	RESULTADOS	25
4.1	EXPERIMENTO I	25
4.1.1	Detecção de estro	25
4.1.2	Taxa de ciclicidade.....	25
4.1.3	Taxa de ovulação ao 1º GnRH.....	25
4.1.4	Taxa de regressão de corpo lúteo.....	27
4.1.5	Taxa de sincronização da ovulação.....	27
4.1.6	Taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF	28
4.1.7	Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós detecção de estro	30
4.1.8	Taxa de prenhez acumulativa.....	32
4.2	EXPERIMENTO II	34
4.2.1	Detecção de estro	34
4.2.2	Taxa de ciclicidade.....	34
4.2.3	Taxa de ovulação ao 1º GnRH.....	34
4.2.4	Taxa de regressão de corpo lúteo.....	36
4.2.5	Taxa de sincronização da ovulação.....	36
4.2.6	Taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF	37

4.2.7	<i>Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós detecção de estro</i>	39
4.2.8	<i>Taxa de prenhez acumulativa.....</i>	40
5	DISCUSSÃO	43
5.1	EXPERIMENTO I	43
5.1.1	<i>Detecção de estro</i>	43
5.1.2	<i>Taxa de ciclicidade.....</i>	44
5.1.3	<i>Taxa de ovulação ao 1° GnRH</i>	45
5.1.4	<i>Taxa de regressão de corpo lúteo.....</i>	46
5.1.5	<i>Taxa de sincronização da ovulação.....</i>	47
5.1.6	<i>Taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF</i>	48
5.1.7	<i>Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós detecção de estro</i>	50
5.1.8	<i>Taxa de prenhez acumulativa.....</i>	51
5.2	EXPERIMENTO II	53
5.2.1	<i>Detecção de estro</i>	53
5.2.2	<i>Taxa de ciclicidade.....</i>	53
5.2.3	<i>Taxa de ovulação ao 1° GnRH</i>	54
5.2.4	<i>Taxa de regressão de corpo lúteo.....</i>	54
5.2.5	<i>Taxa de sincronização da ovulação.....</i>	54
5.2.6	<i>Taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF</i>	55
5.2.7	<i>Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós detecção de estro</i>	57
5.2.8	<i>Taxa de prenhez acumulativa.....</i>	57
6	CONCLUSÕES.....	59
6.1	EXPERIMENTO I	59
6.2	EXPERIMENTO II	60
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa sincronização da ovulação.....	27
2. Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa prenhez a IATF.....	29
3. Taxa de concepção nos animais efetivamente sincronizados, de acordo com tratamento e ordem de lactação.	30
4. Taxa de demonstração de estro por cinco dias após aplicação de PGF _{2α} , no protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação, ciclicidade e ovulação ao 1º GnRH..	30
5. Taxa de concepção do grupo controle e do protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação e ciclicidade.....	31
6. Efeito dos tratamentos na porcentagem de vacas gestantes com 48 dias após o período voluntário de espera, de acordo com a ordem de lactação e ciclicidade.....	32
7. Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa sincronização da ovulação..	36
8. Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa prenhez a IATF.....	38
9. Taxa de concepção nos animais efetivamente sincronizados, de acordo com tratamento e ordem de lactação.	39
10. Taxa de demonstração de estro por cinco dias após aplicação de PGF _{2α} , no protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação, ciclicidade e ovulação ao 1º GnRH..	39
11. Taxa de concepção do grupo controle e do protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação e ciclicidade..	40
12. Efeito dos tratamentos na porcentagem de vacas gestantes com 48 dias após o período voluntário de espera, de acordo com a ordem de lactação e ciclicidade... ..	41

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Protocolo GP+CIDR. Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado ao dispositivo de progesterona (CIDR). No dia 6 houve a remoção do CIDR junto à aplicação de PGF2α (25 mg, dia 6). A inseminação artificial foi realizada após a detecção do estro. Exames com ultra-som (*) nos dias -10, 0 e 6.....	17
2. Protocolo ECPsynch+CIDR- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR, seis dias depois foi realizada a aplicação de PGF2α (25 mg, dia 6) com a remoção do CIDR. Vinte e quatro horas após aplicação da PGF2α, os animais foram tratados com ECP (1mg, dia 7). A IATF foi realizada com 48 horas após a aplicação de ECP. A taxa de sincronização foi avaliada 36 horas pós-IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 9 e 10,5.....	18
3. Protocolo Ovsynch+CIDR- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR. Com seis dias foi realizada a remoção do CIDR junto a aplicação de PGF2α (25 mg, dia 6). Os animais foram tratados com GnRH (50 µg) trinta e seis horas após aplicação de PGF2α. A IATF foi realizada com intervalo de 12 horas, após a aplicação do segundo GnRH. A taxa de sincronização foi avaliada 36 h pós- IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 8 e 9,5.	19
4. Protocolo GP+CIDR. Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado ao dispositivo de progesterona (CIDR). No dia 6 houve a remoção do CIDR junto à aplicação de PGF2α (25 mg, dia 6). A observação de estro teve intervalo de 5 dias, após aplicação de PGF2α. Exames com ultra-som (*) nos dias -10, 0 e 6.....	22
5. Protocolo ECPsynch+CIDR- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR, seis dias depois foi realizada a aplicação de PGF2α (25 mg, dia 6) com a remoção do CIDR. Vinte e quatro horas após aplicação da PGF2α, os animais foram tratados com ECP (1mg, dia 7). A IATF foi realizada com trinta e seis horas após a aplicação de ECP. A taxa de sincronização foi avaliada 36 horas pós-IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 8,5 e 10.....	23
6. Protocolo Ovsynch+CIDR - Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR. Com seis dias foi realizada a remoção do	

CIDR junto a aplicação de PGF2 α (25 mg, dia 6). Os animais foram tratados com GnRH (50 μ g) quarenta e oito horas após aplicação de PGF2 α . A IATF foi realizada com intervalo de 12 horas, após a aplicação do segundo GnRH. A taxa de sincronização foi avaliada 36 h pós- IATF. Exames com ultrassom (*) nos dias: -10, 0, 6, 8,5 e 10...	24
7. Taxa de ciclicidade de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e multíparas Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001	26
8. Taxa de ovulação ao 1º GnRH de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e multíparas. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001	26
9. Taxa de sincronização da ovulação aos protocolos ECPSynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.....	28
10. Taxa de prenhez a IATF, aos protocolos ECPSynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.....	29
11. Taxa de concepção no grupo controle e no protocolo GP+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001	31
12. Proporção de vacas primíparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001	33
13. Proporção de vacas multíparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001	33
14. Taxa de ciclicidade de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e multíparas Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.....	35
15. Taxa de ovulação ao 1º GnRH de acordo com o ECC, em vacas primíparas e multíparas. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.....	35
16. Taxa de sincronização da ovulação aos protocolos ECPSynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes	

primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002	37
17. Taxa de prenhez a IATF, aos protocolos ECPsynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.	38
18. Taxa de concepção no grupo controle e no protocolo GP+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002	40
19. Proporção de vacas primíparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.....	42
20. Proporção de vacas multíparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002	42

LISTA DE ABREVIATURAS

μ =	micrograma
AGNE=	Ácidos Graxos Não Esterificados
AGV=	Ácidos Graxos Voláteis
AMPc=	AMP cíclico
BEN=	Balanço Energético Negativo
CIDR=	Dispositivo Intravaginal Liberador de Progesterona
CL=	Corpo Lúteo
DEL=	Dias em Lactação
ECP=	Cipionato de Estradiol
ECPsynch=	Protocolo de Sincronização da ovulação
FSH=	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH=	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
Graf=	Gráfico
IA=	Inseminação Artificial
IATF=	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
IM=	Intramuscular
IMS=	Ingestão de Matéria Seca
LH=	Hormônio Luteinizante
Ovsynch=	Protocolo de Sincronização da ovulação
PGF ₂ α	= Prostaglandina F ₂ α
PVE=	Período Voluntário de Espera
Tab=	Tabela
TDE=	Taxa de Detecção de Estro

Efeito de protocolos de sincronização da ovulação na taxa de prenhez em vacas leiteiras mestiças mantidas a pasto no verão.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi o testar a combinação de tratamentos hormonais com progesterona (CIDR), gonadorelina (análogo de GnRH), prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) e cipionato de estradiol (ECP), com a finalidade de avaliar tratamentos hormonais de sincronização da ovulação e viabilizar a inseminação artificial em tempo fixo (IATF), em vacas mestiças lactantes Holandês-Zebu mantidas a pasto no verão. O trabalho foi dividido em 2 experimentos. Experimento I foi realizado entre Dezembro (2001) a Fevereiro (2002), em Fernandópolis, SP, Brasil. Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 tratamentos: Controle (n=51): inseminação artificial (IA) 12 horas após detecção do estro; GP + CIDR (n=50): GnRH - 6dias - PGF_{2α} e IA 12 horas após detecção do estro; ECPsynch + CIDR (n=52): GnRH - 6dias - PGF_{2α} - 24hs – ECP - 48hs - IATF e Ovsynch + CIDR (n=53): GnRH - 6dias - PGF_{2α} - 36hs – GnRH - 12hs - IATF. A análise estatística foi procedida por CATMOD (com nível de significância de P<0,05). A eficiência na detecção de estro foi de 50,9%. A taxa de ciclicidade foi influenciada por ordem de lactação (P<0,001; sendo de 41,4% nas vacas primíparas e de 72,6% nas múltíparas) e por escore de condição corporal (ECC; P<0,001). A resposta ovulatória ao 1º GnRH foi influenciada por ECC (P<0,01). A taxa de sincronização de ovulação não foi influenciada por tratamentos (P=0,45, sendo de 75,4% no protocolo Ovsynch + CIDR e de 73,0% no protocolo ECPsynch + CIDR), porém condição corporal (P<0,05) proporcionou efeito sobre a taxa de sincronização. Na taxa de prenhez a IATF, foi verificada interação entre os tratamentos e ordem de lactação (P<0,01), sendo o protocolo ECPsynch + CIDR mais eficiente nas múltíparas (50,0%) em relação ao Ovsynch + CIDR (16,7%), e nas primíparas o protocolo Ovsynch + CIDR (37,9%) foi superior ao ECPsynch + CIDR (25,0%). ECC influenciou a taxa de prenhez a IATF (P<0,01). A taxa de serviço no protocolo GP + CIDR, avaliada por 5 dias após a aplicação de PGF_{2α}, foi influenciada por ciclicidade (P<0,05). Taxa de concepção dos animais inseminados após a observação do estro (protocolo GP + CIDR e Controle) foi influenciada por ECC (P<0,05). Na taxa de prenhez acumulativa aos 48 dias, não foi verificado efeito de tratamentos (P=0,69), entretanto ordem de lactação (P<0,05) influenciou a prenhez acumulativa, sendo o protocolo Ovsynch + CIDR (51,7%) mais efetivo nas primíparas e o ECPsynch + CIDR (66,7%) nas múltíparas. Conclui-se que o intervalo de 36 horas entre as aplicações de PGF_{2α} e de GnRH, no protocolo Ovsynch + CIDR não foi adequado em proporcionar

efetivas taxas de prenhez nas vacas múltiparas (16,7%), enquanto nas primíparas resultou em 37,9% de prenhez. A utilização do ECP (com intervalo de 48 horas até a IATF) foi eficiente em sincronizar a ovulação (73,0%), resultando em efetivas taxas de prenhez, principalmente nas vacas múltiparas (50,0%). A proporção prenhez acumulativa com 48 dias, dependeu principalmente da taxa de prenhez alcançada na IATF. Experimento II foi realizado entre Fevereiro (2002) a Abril (2002), na mesma propriedade do experimento I, também foram divididos em 4 tratamentos: Controle (n=50): IA 12 horas após detecção do estro; GP + CIDR (n=50): GnRH - 6dias - PGF2 α e IA 12 horas após detecção do estro; ECPSynch + CIDR (n=50): GnRH - 6dias - PGF2 α - 24hs - ECP - 36hs - IATF e Ovsynch + CIDR (n=50): GnRH - 6dias - PGF2 α - 48hs - GnRH - 12hs - IATF. A análise estatística foi similar à realizada no experimento I. A eficiência na detecção de estro foi de 38,9%. A taxa de ciclicidade foi influenciada por ECC (P<0,001) e ordem de lactação (P<0,005, sendo de 40,6% nas primíparas e de 73,7% nas múltiparas). A taxa de sincronização foi influenciada por tratamento (P<0,001; sendo de 80,0% no protocolo Ovsynch + CIDR e de 60% no ECPSynch + CIDR) e ovulação ao 1º GnRH (P<0,05). A taxa de prenhez a IATF, não foi verificada influencia de tratamentos (P=0,18, sendo de 36,0% no protocolo Ovsynch+CIDR e de 30,0% no ECPSynch+CIDR), ordem de lactação, ciclicidade, ovulação ao 1º GnRH e ECC. A taxa de serviço do protocolo GP+CIDR foi influenciada por ciclicidade (P<0,05), sendo maior em vacas ciclando (61,3%) do que em vacas em anestro (27,8%). Na taxa de prenhez acumulativa (48 dias) foi verificado influencia de ECC (P<0,05) e de tratamento (P<0,05), sendo os protocolos Ovsynch + CIDR (52,0%) e o ECPSynch + CIDR (44,0%) os mais efetivos. Conclui-se que é importante adotar tecnologias que visem maximizar a taxa de serviço (IATF), devido à baixa eficiência na detecção de estro (38,9%). Estratégias que maximizem a ovulação ao primeiro GnRH são importantes para aumentar a taxa de sincronização. No protocolo ECPSynch + CIDR, a utilização do intervalo de 36 horas entre a aplicação de ECP e a IATF, não foi eficiente em sincronizar a ovulação (60,0%), principalmente nas vacas primíparas (48,0%). No protocolo Ovsynch + CIDR (intervalo de 48 horas entre a aplicação de PGF2 α e de GnRH) foi eficiente em sincronizar a ovulação (80,0%), resultando em taxas de prenhez de 36,0% (sendo de 29,1% nas vacas primíparas e de 42,3% nas múltiparas).

Palavras-chaves: vacas mestiças, IATF, ECP.

Effect of synchronization protocols in pregnancy rate in crossbred cows managed in a grazing based dairy system during the summer

SUMMARY: The objective of this experiment was to evaluate the combination of hormonal treatments with progesterone (CIDR), gonadorelin (GnRH analogue), prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) and estradiol cypionate (ECP), in protocols that allow fixed time artificial insemination (TAI) in crossbred cows managed in a grazing based dairy system during the summer. The experiment was divided in two trials. Trial I was conducted from December (2001) to February (2002), in Fernandópolis, SP, Brazil. The animals were randomly assigned to one of 4 treatment groups: Control (n=51) AI 12 hours after estrus detection; GP + CIDR (n=50): GnRH - 6day - PGF₂ α - AI 12 hours after estrus detection; ECPsynch + CIDR (n=52): GnRH - 6day - PGF₂ α - 24h – ECP - 48h - AI and Ovsynch + CIDR (n=53): GnRH - 6day - PGF₂ α - 36h – GnRH - 12h - AI. Data were analyzed by CATMOD procedure of SAS. Efficiency in the heat detection was 50,9%. The cyclicity was influenced by parity ($P<0,001$; 41,4% in primiparous cows and of 72,6% in multiparous cows) and by body condition score (BCS, $P<0,001$). The ovulatory response to the first GnRH injection was influenced by BCS ($P<0,01$). Synchronization rate was not influenced by treatments ($P=0,45$, 75,4% in the Ovsynch+CIDR and of 73,0% in the ECPsynch+CIDR), but it was influenced by BCS ($P<0,05$). Interactions were observed between treatments and parity ($P<0,01$) in the pregnancy rate at TAI. Treatment ECPsynch+CIDR was more efficient in multiparous cows (50,0%) when compared with Ovsynch+CIDR (16,7%). In primiparous cows the Ovsynch+CIDR (37,9%) was more efficient than ECPsynch+CIDR (25,0%). Pregnancy rate in groups with TAI was influenced by BCS ($P<0,01$). The service rate in GP+CIDR, evaluated for 5 day after the application of PGF₂ α , was influenced by cyclic status ($P<0,05$). Conception rate of the animals that were inseminated after the heat detection (GP+CIDR and Control) was influenced by BCS ($P<0,05$). Cumulative pregnancy rate (48 days) had no effect of treatments ($P=0,69$), however parity ($P<0,05$) had effect. Ovsynch+CIDR (51,7%) was more effective in primiparous cows while ECPsynch+CIDR (66,7%) was more effective in multiparous cows. It is concluded that the 36 hours interval between PGF₂ α and GnRH, in the Ovsynch+CIDR was not efficient in providing effective pregnancy rate in multiparous cows (16,7%), while in the primiparous cows it resulted in 37,9% of pregnancy rate. The use of ECP (with 48 hours interval to TAI) was efficient in synchronize ovulation (73,0%), resulting in effective pregnancy rate, specially in multiparous cows (50,0%). Cumulative pregnancy rate (48 days) depended mainly on the pregnancy rate reached in TAI. Trial II was conducted from February (2002) to April

(2002), in the same farm of trial I. The animals were also divided in 4 treatment groups: Control (n=50): AI 12 hours after estrus detection; GP + CIDR (n=50): GnRH - 6day - PGF2 α and AI 12 hours after estrus detection; ECPSynch + CIDR (n=50): GnRH - 6day - PGF2 α - 24h – ECP - 36h - AI and Ovsynch + CIDR (n=50): GnRH - 6day - PGF2 α - 48h – GnRH - 12h - AI. The statistics analyze were similar to trial I. Efficiency in the heat detection was of 38,9%. Cyclic status was influenced by BCS ($P<0,001$) and parity ($P<0,005$, 40,6% in primiparous cows and 73,7% in multiparous cows). Synchronization rate was influenced by treatments ($P<0,001$; 80,0% in the Ovsynch + CIDR and 60% in ECPSynch + CIDR) and by ovulation to first GnRH injection ($P<0,05$). The pregnancy rate at TAI was not influenced by treatments ($P=0,18$, 36,0% in the Ovsynch + CIDR and 30,0% in ECPSynch + CIDR), parity, cyclic status, ovulation to first GnRH and BCS. Service rate of the GP + CIDR treatment was influenced by cyclic status ($P<0,05$) and was greater in cyclic cows (61,3%) than in anestrous cows (27,8%). It was verified influence of BCS ($P<0,05$) and treatment ($P<0,05$) in cumulative pregnancy rate (48 days) with the Ovsynch + CIDR (52,0%) and ECPSynch + CIDR (44,0%). It is concluded that the TAI protocols is important to maximize the service rate, due to the low efficiency in the heat detection (38,9%). Strategies that maximize the ovulation rate to first GnRH is important to increase synchronization rate. ECPSynch+CIDR with 36 hours interval between ECP and TAI was not efficient in synchronizing ovulation (60,0%), specially in primiparous cows (48,0%). In the Ovsynch+CIDR (48 hours interval between PGF2 α and GnRH) was efficient in synchronize ovulation (80,0%), resulting in pregnancy rates of 36,0% (29,1% in primiparous cows and 42,3% in multiparous cows).

Key Words: Crossbred dairy cows, TAI, ECP.

1.0 - Introdução e Objetivo

A atual situação econômica da produção de leite exige que os produtores operem com máxima eficiência para manter a rentabilidade da atividade. Assim sendo, bons níveis de produção de leite e eficiência reprodutiva devem ser sempre as metas dos criadores para alcançarem alta produtividade e retorno econômico. Logo a otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para melhorar a performance e a lucratividade dos rebanhos.

A detecção do estro é um componente essencial no manejo das propriedades que dependem de sua correta observação para otimizar o momento de se efetuar a inseminação artificial (IA). Segundo DRANSFIELD et al. (1998) a baixa expressão dos sinais visual do estro associado à falhas na observação influencia negativamente a eficiência reprodutiva, uma vez que vacas leiteiras aceitam a monta em média 8,5 vezes por estro com duração média de 7 horas, aproximadamente 25% desses animais apresentam sinais de estro com baixa intensidade ($< 1,5$ aceites de monta/hora) e estro de curta duração ($< 7h$).

Além disso, a detecção do estro é comprometida se a observação for inferior a 30 minutos/ lote, realizada duas vezes ao dia (DRANSFIELD et al., 1998).

Deste modo, o prolongado intervalo até a inseminação resultante de inadequada taxa de detecção do estro aumenta o intervalo entre partos, por causar decréscimo na taxa de prenhez e aumentar o período de serviço, diminuindo a lucratividade diária (BROADWAY, 1975).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a resposta de diferentes protocolos de sincronização em vacas mestiças leiteiras a pasto durante o verão, visando diminuir o intervalo entre o período voluntário de espera (PVE) e a concepção.

2.0 - Revisão de Literatura

2.1 - Dinâmica folicular, ovulação e luteólise

A dinâmica de desenvolvimento dos folículos ovarianos, em bovinos, ocorre de acordo com modelo denominado ondas de crescimento folicular, durante o ciclo estral (ADAMS et al., 1992; BO et al., 1994; GINTHER et al., 1989), durante a prenhez (GINTHER et al., 1989), antes da puberdade (ADAMS et al., 1992) e no pós-parto (SAVIO et al., 1990).

Durante o ciclo estral uma onda ou grupo de folículos emerge 1 a 3 dias após o estro. Geralmente, em torno de 10 a 50 folículos, com diâmetro em torno de 2 a 3 mm. Nos dias subseqüentes, parte destes folículos atingem de 4 a 6 mm, sendo que, de dois a cinco folículos maiores continuarão a crescer, enquanto os outros regredem. Deste grupo de folículos pelo menos um continua seu desenvolvimento, tornando-se o dominante. Este folículo tem taxa de crescimento maior que os demais, denominados folículos subordinados (BODENSTEINER et al., 1996). Devido à presença de um corpo lúteo (CL) funcional, com elevados níveis circulantes de progesterona, esse primeiro folículo dominante não provoca um pico pré ovulatório do hormônio luteinizante (LH), nem a expressão comportamental do estro e tampouco continua a crescer até a ovulação (FORTUNE, 1994).

Em torno do 10º dia do ciclo estral ocorre à emergência da segunda onda de crescimento folicular e o processo se reinicia. O folículo dominante desta segunda onda regride, se houver três ondas, ou se torna o folículo ovulatório caso o ciclo apresente duas ondas. O que determina se irão ocorrer duas ou três ondas de crescimento folicular parece ser a duração da fase lútea (GINTHER et al., 1989). Se a regressão do corpo lúteo ocorrer enquanto o folículo dominante da segunda onda continua funcional, ele será ovulatório, porém, se o folículo já tiver iniciado a fase de

regressão no momento da luteólise, haverá o crescimento de outro folículo dominante, pertencente à terceira onda de crescimento folicular (KASTELIC et al., 1990).

De acordo com GINTHER et al. (1989) o intervalo médio entre as ovulações, é mais curto para ciclos com duas ondas, cerca de 20 dias de duração quando comparado a ciclos com três ondas, em torno de 23 dias, sugerindo que uma terceira onda está relacionada a uma fase luteal mais prolongada.

O momento em que se inicia a maior diferença na taxa de crescimento folicular (mudança de diâmetro), entre os dois maiores folículos, é definida como divergência folicular (GINTHER et al., 1996). A supressão do FSH, parece ser o mecanismo que causa divergência no crescimento entre os folículos, sendo a concentração de FSH regulada por dois componentes do ovário, inibina e estradiol (WILTBANK et al., 1996).

GINTHER et al. (1996) propuseram um modelo na tentativa de explicar o que acontece durante a seleção do folículo dominante. Antes da divergência, as células da granulosa de todos os folículos em crescimento estariam produzindo pequenas quantidades de estradiol sob a influência de FSH, este atuaria estimulando a produção de AMPc nas células da granulosa, que por sua vez, induziria a expressão da enzima aromatase e produção de estradiol, com diminuição da secreção de FSH. O LH estaria presente, mas não atuaria nas células da granulosa, por estas ainda não terem expressado receptores para LH. No momento da divergência (~ 8,5 mm), o folículo dominante expressaria receptores para LH, permitindo aumentar a produção de AMPc mesmo na presença de baixo FSH, que permaneceria baixo devido à inibição pelo estradiol produzido pelo folículo dominante e, conseqüentemente, os folículos que não expressassem receptores para LH, entrariam em atresia e regrediriam.

GONG et al. (1995) verificaram que os folículos não conseguem crescer além de 9 mm de diâmetro, tamanho este do maior folículo no momento da divergência, em vacas cujos pulsos de LH haviam sido suspensos através do tratamento crônico com

um agonista do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH). Portanto, o crescimento folicular após a divergência parece necessitar de pulsos de LH, sendo que o tamanho máximo do folículo pode ser reduzido, quando ocorre diminuição na pulsatilidade de LH. LUCY et al. (1992) observaram que a redução na concentração circulante de progesterona eleva a frequência de pulsos de LH, prolongando o crescimento do folículo dominante.

Deste modo, o folículo ao atingir o tamanho pré-ovulatório produz um nível crítico de estradiol que estimula o hipotálamo a aumentar a frequência e a amplitude dos pulsos de GnRH, ocasionando também aumento na liberação dos pulsos de LH pela hipófise (WALTERS & SCHALLENBERGER, 1984), que irá determinar a maturação folicular resultando no pico de estrógenos (principalmente 17β estradiol), manifestando o comportamento de estro e o posterior pico pré-ovulatório de LH (MUKASA-MUGERWA, 1989).

Nos bovinos e ovinos, a lise do CL é causada pela secreção de prostaglandina F₂ alfa ($PGF_{2\alpha}$) pelo endométrio uterino (HORTON & POYSER, 1975). O estradiol atua no endométrio estimulando a síntese de receptores para ocitocina, e esta, proveniente do CL ou da neurohipófise, estimula a secreção de $PGF_{2\alpha}$ (MCCRACKEN et al., 1984). A retirada do estradiol através da aspiração dos folículos ou do tratamento com inibina, atrasa a luteólise (DUFOUR et al., 1971; SALFEN et al., 1999).

Na primeira ovulação pós-parto, têm se observado uma incidência de regressão prematura do CL, resultado da liberação precoce de $PGF_{2\alpha}$, pelo útero (HINSHELWOOD et al., 1982; GARVERICK et al., 1992). Seis dias após ovulação, o CL torna-se responsivo aos efeitos luteolíticos da $PGF_{2\alpha}$ (COPELIN et al., 1987). Em vacas com regressão prematura do CL, o útero tem maior potencial para liberação de $PGF_{2\alpha}$ em resposta a ocitocina (ZOLLERS et al., 1989), possuindo mais receptores para ocitocina e poucos receptores para progesterona no endométrio, explicando

assim a maior resposta à ocitocina (ZOLLERS et al., 1993). Pré-tratamento com progesterona previne a luteólise prematura, resultando na duração normal do ciclo estral (RAMIREZ-GODINEZ et al., 1981; GARVERICK et al., 1992).

RIVERA et al. (1998) comparando vacas que receberam ou não, no pós-parto, implante de progesterona (CIDR), observaram que não houve regressão prematura do CL no grupo com implante de progesterona, entretanto nos animais sem implante todos tiveram regressão prematura de CL, sendo que nos animais sem regressão o CL esteve presente por um período maior (14,5 e 5 dias, respectivamente), secretando concentrações mais elevadas de progesterona e com maior área de tecido lúteo (261 e 110mm², respectivamente).

2.2 - Fatores relacionados à eficiência reprodutiva pós-parto

2.2.1 - Anestro

Vacas de leite no início da lactação não conseguem ingerir o que necessitam para atender as exigências energéticas da lactação, pois o pico na produção de leite ocorre entre a 4^a e a 8^a semanas pós-parto, enquanto o pico na ingestão de matéria seca (IMS), acontece entre a 10^a e a 14^a semanas pós-parto. A proporcional menor IMS em relação à produção de leite causa balanço energético negativo (BEN), nas primeiras semanas pós-parto, período em que ocorre maior mobilização dos tecidos corporais, principalmente dos depósitos de gordura (NRC, 2001).

Animais obesos ao parto exibem maior redução do apetite e, deste modo, BEN mais acentuado do que aquelas vacas com moderada condição corporal ao parto. Desta forma, há maior mobilização de gordura e acúmulo de triglicérides no fígado, que também está associado ao maior intervalo do parto à primeira ovulação e a redução da fertilidade (RUKKWASUK et al., 1999).

O período até a primeira ovulação pós-parto varia entre os animais, estando relacionado com a intensidade do BEN (BUTLER, 2000). No início do pós-parto, o BEN, desencadeia um estado onde o hipotálamo fica extremamente sensível ao *feedback* negativo do estradiol, estado semelhante ao observado em novilhas pré-púberes (KINDER et al., 1995), alterando a pulsatilidade de LH. A diminuição destes pulsos, por sua vez impossibilita o crescimento do folículo dominante até o tamanho pré-ovulatório e a produção de estradiol pré-ovulação, não havendo o pico de estradiol nem o correspondente pico de GnRH/LH (SCHILLO, 1992).

RHODES et al. (1996) observaram que as concentrações médias de LH, diâmetro do folículo dominante e concentração de estradiol, foram menores quando se compararam ciclos anovulatórios e ovulatórios, em novilhas submetidas à restrição alimentar. Concluíram que a falha na ovulação, após restrição alimentar, era resultante de concentração insuficiente de LH para estimular o desenvolvimento final do folículo ovulatório.

IMAKAVA et al. (1987) demonstraram em novilhas ovariectomizadas recebendo dietas de alto e baixo teor energético e implantes de estradiol, redução na frequência dos pulsos de GnRH e LH, decorrentes em especial da inatividade hipotalâmica, do que da inabilidade da hipófise em responder ao GnRH e que a desnutrição atua aumentando a sensibilidade do hipotálamo aos efeitos do *feedback* negativo do estradiol.

À medida que as vacas vão atingindo equilíbrio energético mais positivo, ocorre a redução do *feedback* negativo do estradiol e o aumento da frequência dos pulsos de GnRH/LH (BUTLER, 2000). Logo, deve-se tentar melhorar o consumo de energia através do fornecimento de boa alimentação no período de transição, ou seja, tentar minimizar a queda da IMS à medida que se aproxime a data de parição (BERTICS et al., 1992), assim como reduzir a incidência de desordens periparto (GRUMMER, 2002), são estratégias importantes para redução do período de anestro pós-parto.

Embora a redução da fertilidade como consequência do BEN, no início da lactação, possa ser demonstrada pelo prolongado período de anestro (RHODES et al., 1995), poucos estudos avaliaram a real influência que o BEN já exerceu em animais que estejam ciclando. BRITT (1994) levanta a hipótese de que os efeitos do BEN não estão somente associados com o período necessário para a primeira ovulação pós-parto, mas, também sobre a viabilidade do ovócito e do corpo lúteo, de modo que o BEN, poderia influenciar negativamente a qualidade dos futuros folículos que estão para ovular.

2.2.2 - Estresse térmico

O estresse térmico tem um efeito negativo importante sobre as taxas de concepção em gado leiteiro, pois pode afetar a qualidade dos ovócitos (ROTH, 1999), a manifestação de estro (NEBEL et al., 1997) e a sobrevivência dos embriões (EALY et al., 1993).

ROTH (1999) ao aspirar folículos de ciclos consecutivos, no outono, de vacas submetidas ao estresse térmico no verão, encontrou menores índices de ovócitos grau I (melhor qualidade), no início do outono (28%) e maiores no final (55%), associando a baixa fertilidade no outono como um efeito atrasado do estresse térmico sofrido no verão, sobre a qualidade dos ovócitos.

Alguns estudos demonstraram que o estresse térmico reduz a concentração de estradiol folicular (WILSON et al., 1998), que pode acarretar na diminuição da intensidade do estro, além de inatividade física na vaca (LUCY, 2001).

O período de maior sensibilidade, aos efeitos deletérios do estresse térmico, inicia-se antes da ovulação e continua até cerca de um dia após a inseminação e com três dias pós-inseminação, os embriões aparentemente já desenvolveram resistência aos efeitos do estresse térmico (EALY et al., 1993). A resistência dos embriões ao

estresse térmico vai aumentando à medida que o mesmo se desenvolva, pois, segundo EDWARDS & HANSEN (1997) o aumento no número de células embrionárias permite maior sobrevivência, além do desenvolvimento de mecanismos bioquímicos de termo proteção durante o seu desenvolvimento.

2.3 - Protocolos Hormonais

2.3.1 - Sincronização de estro

Métodos para sincronizar o estro têm sido desenvolvidos e utilizados em muitos rebanhos leiteiros, visando facilitar e tornar mais eficiente o manejo reprodutivo (FOLMAN, 1984). Com a utilização de protocolos de sincronização, o manejo da IA torna-se mais eficiente, reduzindo o intervalo para a primeira e as subseqüentes inseminações (LARSON & BALL, 1992). O protocolo comumente utilizado, em vacas leiteiro tem como base à utilização de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

Entretanto, a $\text{PGF}_{2\alpha}$ não regride corpos lúteos com idade inferior a cinco dias (COPELIN et al., 1987), tornando necessárias duas aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$, com intervalo de 14 dias, para efetivamente sincronizar o estro de vacas em lactação (LUCY et al., 1986). A $\text{PGF}_{2\alpha}$ também não sincroniza vacas em anestro, sendo que o número de animais nesta condição depende do nível nutricional do rebanho (STEVENSON & PURSLEY, 1994). Outra limitação ao uso de $\text{PGF}_{2\alpha}$ é a baixa taxa de sincronização de estro, pois esta varia de acordo com o estágio de desenvolvimento folicular no momento da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (SAVIO et al., 1990).

LUCY et al. (2001) avaliaram protocolo usando CIDR por 7 dias associado a uma dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no sexto dia, e relataram aumento na porcentagem de manifestação de estro (concentrados nos primeiros três dias pós-remoção do CIDR) e

na taxa de prenhez, sendo efetivo tanto em rebanhos ciclando como em anestro. A combinação de GnRH e CIDR, por 8 dias, com uma aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ 24 horas antes da retirada do dispositivo em vacas leiteiras, determinou uma taxa de detecção de estro e concepção de 85% e 58%, respectivamente (RYAN et al., 1995).

2.3.2 - Sincronização da ovulação

A $\text{PGF}_{2\alpha}$ pode ser usada eficientemente no manejo reprodutivo de vacas leiteiras, mas, devido à baixa taxa de concepção quando se insemina em horário prefixado (PURSLEY, 1996), torna-se indispensável a contínua detecção de estro. Assim, não se elimina o problema de muitos rebanhos, ou seja, a baixa taxa de detecção de estro, reduzindo a performance reprodutiva e, indiretamente, a produção de leite por dia de intervalo entre parto (BRITT, 1985).

O protocolo Ovsynch sincroniza a ovulação em vacas leiteiras, possibilitando a utilização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), sem a necessidade de observação do estro. Consiste em uma aplicação de GnRH, independentemente da fase do ciclo estral, promovendo a ovulação do folículo dominante e iniciando ou coincidindo com o início de uma nova onda de crescimento folicular, sincronizando o desenvolvimento do próximo folículo dominante.

Uma aplicação intramuscular de $\text{PGF}_{2\alpha}$ é administrada sete dias após a primeira aplicação de GnRH, causando a regressão do corpo lúteo. A segunda aplicação de GnRH realizada de 36 a 48 horas após aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$, sincroniza a ovulação em um período que varia de 8 h, 24 a 32 h após a segunda aplicação de GnRH. A administração da segunda dose de GnRH, com intervalo de 36 ou 48 horas após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, parece não afetar a taxa de prenhez após a IATF (PURSLEY et al., 1995).

Animais com três ondas de crescimento folicular têm menor resposta à primeira aplicação de GnRH, diminuindo a taxa de sincronização, já que o intervalo entre ondas é mais curto e a chance de se ter folículos com capacidade ovulatória no momento da aplicação do GnRH, é menor do que em animais com duas ondas (PURSLEY et al., 1995).

Durante a fase inicial do ciclo estral (dias 1-4), somente 23% das vacas ovularam após a primeira aplicação de GnRH, pois uma nova onda de crescimento folicular deveria estar emergindo e um menor número de folículos tinha capacidade ovulatória, porém 96% das vacas, entre os dias 5 a 9 do ciclo estral, apresentaram ovulação em resposta ao 1º GnRH (VASCONCELOS, 1998).

A redução do intervalo entre a primeira aplicação de GnRH e a de $\text{PGF}_{2\alpha}$, no dia 6, tem como objetivo melhorar a taxa de sincronização, em animais que desenvolvem três ondas, VASCONCELOS et al. (2000) observaram que vacas mestiças lactantes ao receberem $\text{PGF}_{2\alpha}$ no dia 6, apresentaram melhores taxas de sincronização da ovulação que aquelas do dia 7 (71,6% e 58,8%, respectivamente). ROY & TWAGIRAMUNGU (1996) relataram que a diminuição do intervalo de 7 para 6 dias resultou em menor incidência de estro prematuro e maior precisão do momento de ocorrência do estro.

PURSLEY et al. (1997) relataram que o protocolo Ovsynch, quando comparado à utilização de $\text{PGF}_{2\alpha}$, diminui o número de dias para a primeira inseminação (54 vs. 83 dias), mantendo a mesma taxa de concepção ao primeiro serviço (37% vs. 39%), aumentando a porcentagem de vacas gestantes aos 100 dias (53% vs. 35%) e, diminuindo o período de serviço (99 vs. 118 dias).

Os tratamentos hormonais também podem ser usados para vacas em anestro PURSLEY et al. (2001) utilizando vacas leiteiras lactantes em anestro, ao combinarem o protocolo Ovsynch + CIDR, relataram taxas de prenhez mais altas (55,2%) em

relação àquelas que receberam apenas o protocolo Ovsynch (34,7%), no dia 28 após a IA. MARTÍNEZ et al. (2002) ao associarem o CIDR ao protocolo Ovsynch, em novilhas, relataram 68% de prenhez, enquanto o protocolo Ovsynch isoladamente apresentou taxa de 38,5%, porém, em vacas, a adição do CIDR não melhorou as taxas de prenhez em relação ao Ovsynch (42,9% e 45,1%, respectivamente).

O estradiol exógeno, quando na presença de baixa concentração de progesterona endógena, tem a habilidade, através de *feedback* positivo, de estimular a liberação hipotalâmica de GnRH e induzir o pico pré-ovulatório de LH (BO et al., 1994). A substituição da segunda dose de GnRH por benzoato de estradiol já foi amplamente testada e se mostrou efetiva na sincronização da ovulação, resultando em taxas de prenhez similares àquelas no qual se usou apenas o GnRH como hormônio indutor da ovulação (FERNANDES et al., 2001).

Recentemente, uma série de experimentos testou a viabilidade da utilização de cipionato de estradiol (ECP) para a indução da ovulação em protocolos de IATF. PANCARCI et al. (2002) verificaram que o intervalo entre a aplicação do ECP (1 mg) e a ovulação foi de $58,5 \pm 4\text{h}$ (n=33) e de $27,1 \pm 1,1\text{h}$ (n=28) após o início do estro, sendo que este ocorreu $33,6 \pm 4,4\text{h}$ (n=27) após sua aplicação, com taxa de sincronização, no intervalo entre 42 a 70 horas pós ECP, de 75,8% (25/33).

STEVENSON et al. (2002) também avaliaram se o ECP poderia substituir a segunda dose de GnRH (ECPsynch), do protocolo Ovsynch e o efeito do CIDR aplicado junto à primeira dose de GnRH, mantido por sete dias, em vacas leiteiras lactantes (61 a 82 dias pós-parto). A taxa de concepção foi maior no grupo ECPsynch+CIDR (39%, n=26) que no grupo ECPsynch (22%, n=37), ocorrendo o inverso com o grupo Ovsynch+CIDR (5%, n=20) em relação ao grupo Ovsynch (43%, n=28).

BARTOLOME et al. (2002) verificaram taxas de prenhez de acordo com o estágio do ciclo estral em que se iniciou o protocolo Ovsynch ou ECPSynch: diestro 19% e 15,7%; metaestro: 9,5% e 44,4%; proestro: 14,7% e 12,8% e císticas: 28,6% e 8,3%, respectivamente.

2.4 – Hipótese

A hipótese deste trabalho é de que estratégias hormonais possibilitem aumento na taxa de prenhez em vacas leiteiras mestiças mantidas a pasto no verão.

3.0 - Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos, que serão descritos separadamente a seguir.

3.1 - EXPERIMENTO I

3.1.1 - Período de realização e animais

O experimento I foi realizado na Fazenda São Pedro - Agropecuária CFM Ltda, localizada no município de Fernandópolis – SP, durante o período de Dezembro (2001) a Fevereiro (2002).

Foram utilizadas vacas mestiças lactantes primíparas (n=111) e multíparas (n=95), distribuídas em 3 lotes (1 de primíparas e 2 de multíparas), com produção de $12,7 \pm 2,5$ (4,4 – 17,8) e $14,9 \pm 3,5$ (6,4 – 22,0) Kg leite/dia, respectivamente. Os lotes encontravam-se com $98,6 \pm 70,1$ (31 – 385) e $88,0 \pm 50,1$ (32 – 409) dias em lactação (DEL), respectivamente, no dia da primeira aplicação de GnRH (dia 0).

As vacas foram mantidas em sistema de pastejo rotacionado, formadas com os capins Colonião ou Mombaça e com intervalo médio entre pastejos de 28 dias. Com o fornecimento de concentrado na sala de ordenha, de acordo com a produção média dos lotes, na proporção de 1 Kg de concentrado para cada 4 Kg de leite produzido.

Vacas com mais de 20 dias pós-parto, ao momento da primeira avaliação ultra-sonográfica (dia -10), foram incluídas no programa, descartando somente os animais com metrite comprovada por ultra-sonografia.

3.1.2 - Avaliação da condição corporal, diagnósticos da atividade ovariana e de gestação

Ao início do experimento, dia -10, o escore da condição corporal (ECC) foi avaliado seguindo uma escala de 1 (emaciada) a 5 (obesa) (LOWMAN et al., 1976).

A taxa de ciclicidade foi determinada por exame ultra-sonográfico, utilizando ultra-som Aloka SSD-500 (Wallingford, CT), com transdutor linear de 7,5 MHz, 10 dias antes (dia -10) e ao início dos tratamentos (dia 0), sendo considerada a presença de CL nos ovários, em um dos exames, como indicativo de atividade cíclica. Na avaliação desta variável todos animais foram incluídos, independente de tratamento.

A taxa de ovulação ao primeiro estímulo hormonal (GnRH), foi avaliada pela identificação do folículo dominante, no momento da aplicação do hormônio (dia 0) e posterior confirmação da ovulação seis dias depois, pela presença de CL. Animais do grupo controle não foram incluídos na avaliação deste parâmetro.

A taxa de regressão do CL foi avaliada comparando-se seu tamanho no momento da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (dia 6) e na realização da IATF, com reconfirmação da regressão no exame realizado para avaliar a taxa de sincronização (36 horas após a IATF). Foi considerado como regressão do CL quando houve redução do diâmetro para $<15\text{mm}$. Animais do grupo controle não foram incluídos na avaliação deste parâmetro.

Considerou-se ovulação sincronizada quando houve ovulação do folículo, detectado no momento da aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e ovulado 36h depois da IATF. Animais com folículo detectado no momento da aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ e já ovulado no momento da IATF, foram considerados sincronizados, porém com ovulação antecipada. Animais não sincronizados foram os que apresentaram folículo no momento da IATF e não

ovularam no intervalo de 36h após a IATF. Neste parâmetro somente animais do protocolo Ovsynch+CIDR e ECPsynch+CIDR foram incluídos.

O diagnóstico de gestação, realizado através da ultra-sonografia, foi realizado em dois momentos, sendo o primeiro efetuado aos 28 dias após a IATF e o segundo com 28 dias após o final do período experimental de 48 dias. Na avaliação desta variável todos animais inseminados foram incluídos, independente de tratamento.

3.1.3 - Detecção de estro e inseminação artificial

A detecção do estro foi realizada pela manhã e à tarde, com intervalo de aproximadamente 12 horas, com período mínimo de observação de 30 minutos/lote.

A eficiência na detecção de estro foi determinada pela associação das informações: presença dos folículos e do corpo lúteo, nos dias -10 e 0, com a demonstração de estro neste período. Vacas em anestro e que mantiveram o mesmo CL neste período não foram incluídas nesta análise.

Foi considerada detecção correta do estro a identificação visual do estro (animal aceitando monta) e posterior confirmação da presença do novo CL, ao dia 0. Falha de observação foi definida como a presença de CL novo (dia 0), sem a identificação do estro. Considerou estro incorreto, a identificação visual do estro porém sem a presença de CL novo, ao dia 0.

A inseminação artificial (IA), nos tratamentos em que se observou estro foi realizada cerca de 12 horas após a verificação do estro. Nos tratamentos com inseminação em tempo fixo, a IA foi realizada nos horários pré-determinados, independente das fêmeas terem ou não demonstrado estro.

Foi utilizado sêmen congelado de fertilidade conhecida (3 touros) e a IA foi efetuada pelo mesmo inseminador.

3.1.4 - Tratamentos

3.1.4.1 - Grupo controle

Neste tratamento os animais (n=51; sendo 28 primíparas e 23 multíparas) permaneceram sob o manejo reprodutivo adotado na propriedade, com observação de estro pela manhã e à tarde e inseminação 12 horas após identificação visual do estro.

3.1.4.2 - Protocolo GP+CIDR

As vacas (n=50; sendo 26 primíparas e 24 multíparas) receberam aplicação de GnRH (50 µg, Cystorelin®, via IM, dia 0) e dispositivos intravaginais de progesterona CIDR® (Controlled Internal Drug Realase, 1,9 g de progesterona, dia 0). Seis dias depois foi feita a aplicação de PGF₂α (25 mg de dinoprost trometamina, Lutalyse®, via IM, dia 6) e remoção do CIDR. As vacas deste grupo foram inseminadas após detecção do estro, como no grupo controle. Porém a taxa de serviço, no intervalo de 5 dias após aplicação de PGF₂α, foi avaliada neste protocolo.

O acompanhamento por ultra-sonografia (*) foi realizado nos dias -10, 0 e 6.

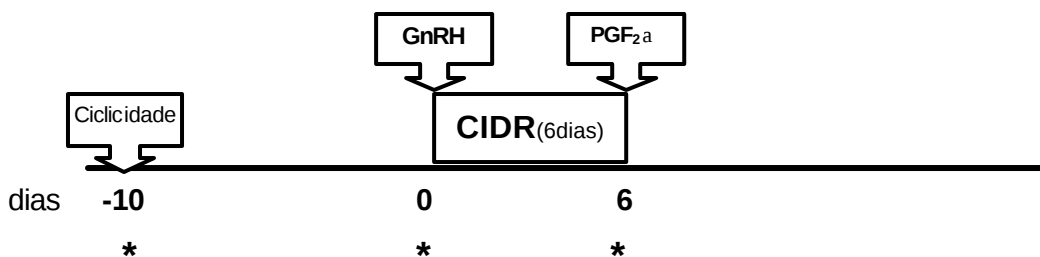


Figura 1 - **Protocolo GP+CIDR**. Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado ao dispositivo de progesterona (CIDR). No dia 6 houve a remoção do CIDR junto à aplicação de PGF₂α (25 mg, dia 6). A inseminação artificial foi realizada após a detecção do estro. Exames com ultra-som (*) nos dias -10, 0 e 6.

3.1.4.3 - Protocolo ECPsynch+CIDR

Neste grupo, as vacas (n=52, sendo 28 primíparas e 24 multíparas) no dia 0 receberam aplicação de GnRH (50 µg) e dispositivos intravaginais de progesterona (CIDR), seis dias depois houve a remoção do CIDR junto com a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (25 mg). Vinte e quatro horas depois os animais foram tratados com ECP (1 mg, cipionato de estradiol, via IM, dia 7). Quarenta e oito horas após a aplicação de ECP as vacas foram submetidas a IATF.

Vacas que demonstraram estro trinta e seis horas após a IATF foram novamente inseminadas, sendo consideradas vazias a IATF.

O acompanhamento por ultra-sonografia (*) foi realizado nos dias -10, 0, 6, 9 e 10,5.

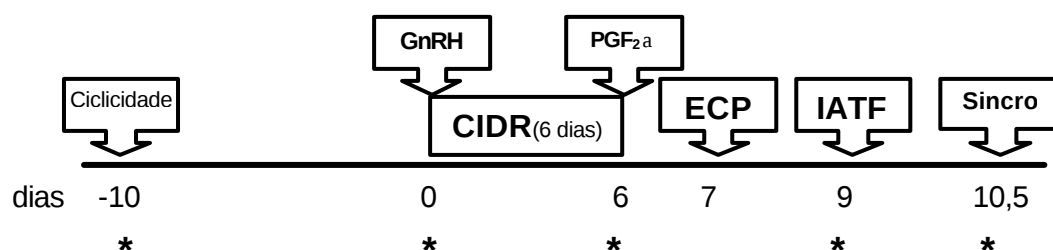


Figura 2 - **Protocolo ECPsynch+CIDR**- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR, seis dias depois foi realizada a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (25 mg, dia 6) com a remoção do CIDR. Vinte e quatro horas após aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$, os animais foram tratados com ECP (1mg, dia 7). A IATF foi realizada com 48 horas após a aplicação de ECP. A taxa de sincronização foi avaliada 36 horas pós-IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 9 e 10,5.

3.1.4.4 - Protocolo Ovsynch+CIDR

As vacas (n=53, sendo 29 primíparas e 24 múltiparas) receberam aplicação de GnRH (50 µg) e dispositivos intravaginais de progesterona (dia 0), com intervalo de seis dias foi feita a remoção do dispositivo junto com a aplicação de PGF₂α (25 mg). Após trinta e seis horas foi realizada nova aplicação de GnRH (50 µg). A IATF foi efetuada 12 horas após a segunda aplicação do GnRH.

Vacas que demonstraram estro trinta e seis horas após a IATF foram novamente inseminadas, sendo consideradas vazias a IATF.

O acompanhamento por ultra-sonografia (*) foi realizado nos dias -10, 0, 6, 8 e 9,5.

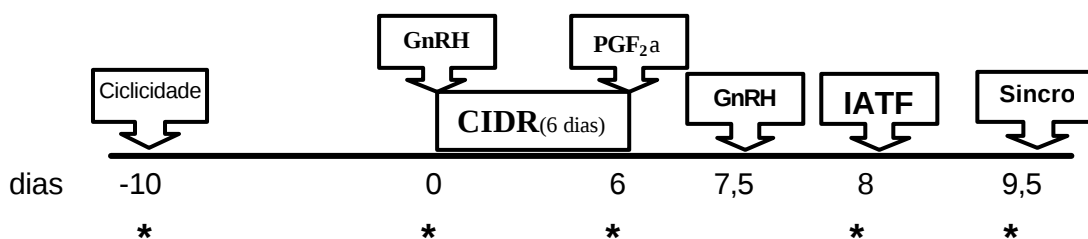


Figura 3 - **Protocolo Ovsynch+CIDR**- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR. Com seis dias foi realizada a remoção do CIDR junto à aplicação de PGF₂α (25 mg, dia 6). Os animais foram tratados com GnRH (50 µg) trinta e seis horas após aplicação de PGF₂α. A IATF foi realizada com intervalo de 12 horas após a aplicação do segundo GnRH. A taxa de sincronização foi avaliada 36 h pós- IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 8 e 9,5.

3.1.5 - Análise Estatística

Os dados foram analisados por meio do SAS (Statistical Analysis System, version 6.12). Diferenças nas taxas de ciclicidade, ovulação ao primeiro GnRH, sincronização, prenhez dos animais submetidos a IATF, concepção dos animais observados em estro e de prenhez acumulativa foram avaliados pelo procedimento CATMOD (Categorical Modeling Procedure).

O modelo matemático contém os efeitos de: tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade, ovulação ao primeiro GnRH, sincronização, escore de condição corporal, produção de leite, dias em lactação e interações. Na descrição dos resultados foram empregadas as médias, com níveis de significância de $P < 0,05$ e de tendência $P < 0,10$.

Diferenças entre os tratamentos foram avaliadas por meio de três contrastes linearmente independentes, o contraste 1 foi empregado para comparar os protocolos de IATF (Ovsynch+CIDR vs ECPsynch+CIDR), sendo utilizado nas análises de sincronização e de prenhez a IATF; o contraste 2 comparou o protocolo GP+CIDR e o grupo controle, na análise de taxa de concepção; e o contraste 3 comparou os protocolos hormonais e o grupo controle (Ovsynch+CIDR vs Controle; ECPsynch+CIDR vs Controle e GP+CIDR vs Controle), nas análises de taxa de prenhez acumulativa.

Com objetivo de se avaliar os efeitos de tratamentos e ordem de lactação no intervalo entre o início dos tratamentos até o diagnóstico de prenhez, utilizou-se à análise de sobrevivência (PROC LIFETEST do SAS). Diferenças entre as curvas de sobrevivência foram avaliadas com o teste de Wilcoxon.

3.2 – EXPERIMENTO II

3.2.1 - Período de realização e animais

Este experimento foi realizado no período de Fevereiro a Abril de 2002. Foram utilizados animais pertencentes à mesma propriedade do Experimento I.

As vacas primíparas (n=96) e multíparas (n=102), apresentaram produção de $12,7 \pm 2,5$ (4,0 – 21,0) e $15,7 \pm 2,4$ (5,0 – 26,2) Kg leite/dia, respectivamente e com $126,5 \pm 87,5$ (28 – 523) e $90,0 \pm 68,9$ (28 – 343) dias em lactação (DEL), respectivamente, no dia da primeira aplicação de GnRH (dia 0).

Durante este experimento as vacas ficaram distribuídas em 9 lotes diferentes (3 de primíparas e 6 de multíparas), de acordo com a ordem de lactação e produção leiteira, sendo mantidas sob as mesmas condições de pastejo e arraçãoamento do experimento I.

Vacas com mais de 20 dias pós-parto, ao momento da primeira avaliação ultrasonográfica (dia -10), foram incluídas no programa, descartando somente os animais com metrite comprovada por ultra-sonografia.

3.2.2 - Avaliação da condição corporal, diagnósticos da atividade ovariana e de gestação

As avaliações de ECC, de ciclicidade, de ovulação ao primeiro GnRH, de regressão do CL, de sincronização e de taxa de prenhez foram determinados conforme descrito no experimento I.

3.2.3 - Detecção de estro e inseminação artificial

A detecção do estro e a inseminação artificial foram realizadas seguindo o mesmo esquema do experimento I.

3.2.4 - Tratamentos

3.2.4.1 - Grupo controle

Este grupo foi composto por 50 animais, sendo 23 primíparas e 27 multíparas, mantidos sob as mesmas condições de manejo reprodutivo adotadas no experimento I.

3.2.4.2 - Protocolo GP+CIDR

Neste protocolo não foi realizada qualquer alteração em relação ao experimento I, sendo utilizado 50 animais (24 primíparas e 26 multíparas). As vacas deste grupo foram inseminadas após detecção do estro, como no grupo controle. Sendo avaliada a taxa de serviço, no intervalo de 5 dias após aplicação de PGF_{2α}.

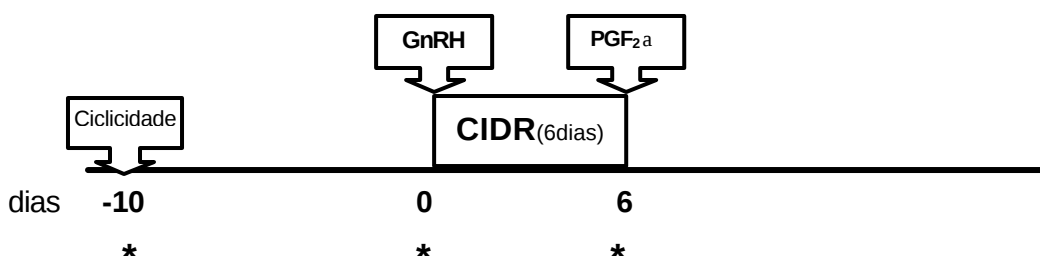


Figura 4 - **Protocolo GP+CIDR**. Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado ao dispositivo de progesterona (CIDR). No dia 6 houve a remoção do CIDR junto à aplicação de PGF_{2α} (25 mg, dia 6). A inseminação artificial foi realizada após a detecção do estro.. Exames com ultra-som (*) nos dias -10, 0 e 6.

3.2.4.3 - Protocolo ECPsynch+CIDR

Os animais (n=50, sendo 25 primíparas e 25 multíparas) deste tratamento foram submetidos a similar protocolo de sincronização utilizado durante o experimento I, sofrendo alteração somente no intervalo entre a aplicação do ECP e a realização da IATF, que neste experimento foi de trinta e seis horas e no experimento I foi de quarenta e oito horas.

Como no experimento I, vacas que demonstraram estro trinta e seis horas após IATF foram novamente inseminadas, sendo consideradas vazias a IATF.

O acompanhamento por ultra-sonografia (*) foi realizado nos dias -10, 0, 6, 8,5 e 10.

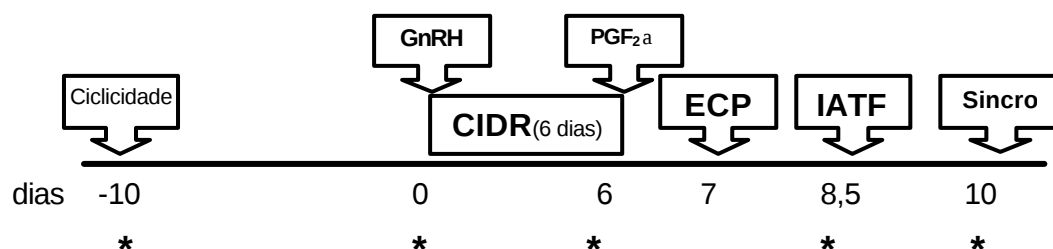


Figura 5 - **Protocolo ECPsynch+CIDR**- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR, seis dias depois foi realizada a aplicação de PGF_{2α} (25 mg, dia 6) com a remoção do CIDR. Vinte e quatro horas após aplicação da PGF_{2α}, os animais foram tratados com ECP (1mg, dia 7). A IATF foi realizada com trinta e seis horas após a aplicação de ECP. A taxa de sincronização foi avaliada 36 horas pós-IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 8,5 e 10.

3.2.4.4 - Protocolo Ovsynch+CIDR

Neste protocolo (n=50, sendo 24 primíparas e 26 multíparas) a única alteração em relação ao experimento I, foi em relação ao intervalo entre a aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ e do segundo GnRH. No experimento I o intervalo realizado foi de trinta e seis horas, já neste experimento houve o acréscimo de doze horas, ou seja, o intervalo foi de quarenta e oito horas.

Foi realizada a IATF, 12 horas após a segunda aplicação do GnRH e vacas que demonstraram estro 36 horas após IATF foram novamente inseminadas, sendo consideradas vazias a IATF.

O acompanhamento por ultra-sonografia (*) foi realizado nos dias -10, 0, 6, 8,5 e 10.

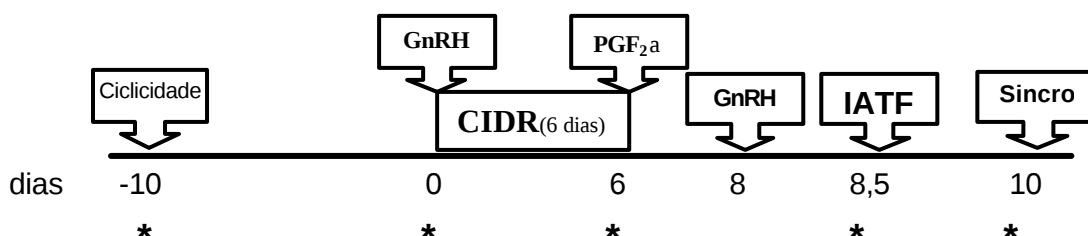


Figura 6 - **Protocolo Ovsynch+CIDR**- Aplicação de GnRH (50 µg, dia 0) associado com CIDR. Com seis dias foi realizada a remoção do CIDR junto à aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (25 mg, dia 6). Os animais foram tratados com GnRH (50 µg) quarenta e oito horas após aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$. A IATF foi realizada com intervalo de 12 horas após a aplicação do segundo GnRH. A taxa de sincronização foi avaliada 36 h pós- IATF. Exames com ultra-som (*) nos dias: -10, 0, 6, 8,5 e 10.

3.2.5 - Análise Estatística

Os dados do experimento II foram analisados de modo similar ao utilizado no experimento I.

4.0 - Resultados

4.1 – EXPERIMENTO 1

4.1.1 - Detecção de estro

A eficiência da detecção de estro foi de 56,5% (43/76), com 36,8% (28/76) de falhas na observação e 6,7% (5/76) de detecção incorreta de estro. Animais em anestro (n=87) ou com presença do mesmo CL nas duas avaliações (n=43), não foram incluídos na avaliação deste parâmetro.

4.1.2 - Taxa de ciclicidade

Ordem de lactação ($P<0,001$) influenciou a taxa de ciclicidade, sendo de 41,4% (111) nas vacas primíparas e de 72,6% (95) nas multíparas.

ECC apresentou efeito significativo ($P<0,001$) sobre a proporção de animais ciclando, sendo que quanto maior a condição corporal, maior a proporção de vacas ciclando, independente de serem primíparas ou multíparas (Fig. 7).

4.1.3 - Taxa de ovulação ao 1° GnRH

Houve influencia do ECC ($P< 0,01$) na proporção de animais que ovularam ao 1° GnRH (Fig. 8). Vacas com menor ECC apresentaram menor resposta ao GnRH. Vacas primíparas apresentaram tendência ($P<0,10$) de maior taxa de ovulação ao 1° GnRH (46,9%, n=83) em relação às multíparas (37,5%, n=72). Ciclicidade não influenciou ($P=0,62$) a taxa de ovulação ao 1° GnRH, sendo de 42,8% nas vacas em anestro (n=70) e de 42,3% nas ciclando (n=85), respectivamente.

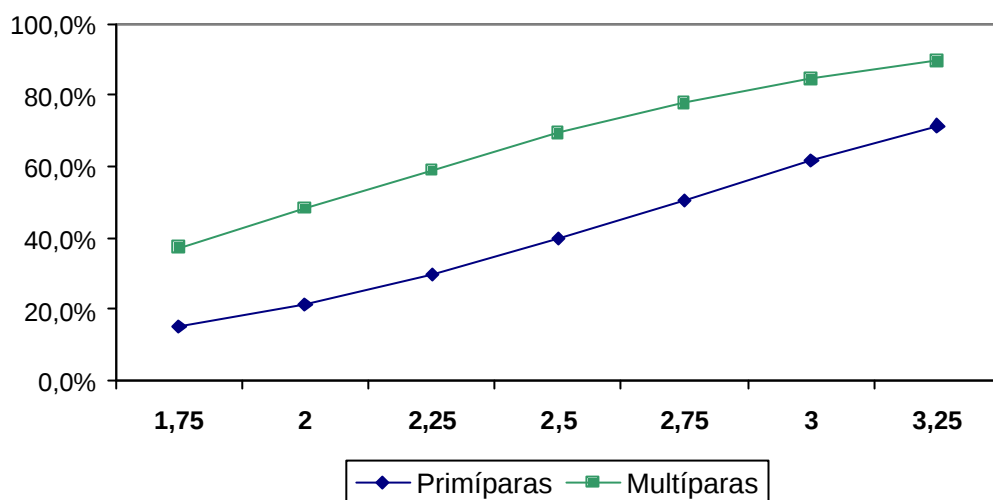


Figura 7 - Taxa de ciclicidade de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e múltíparas, Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

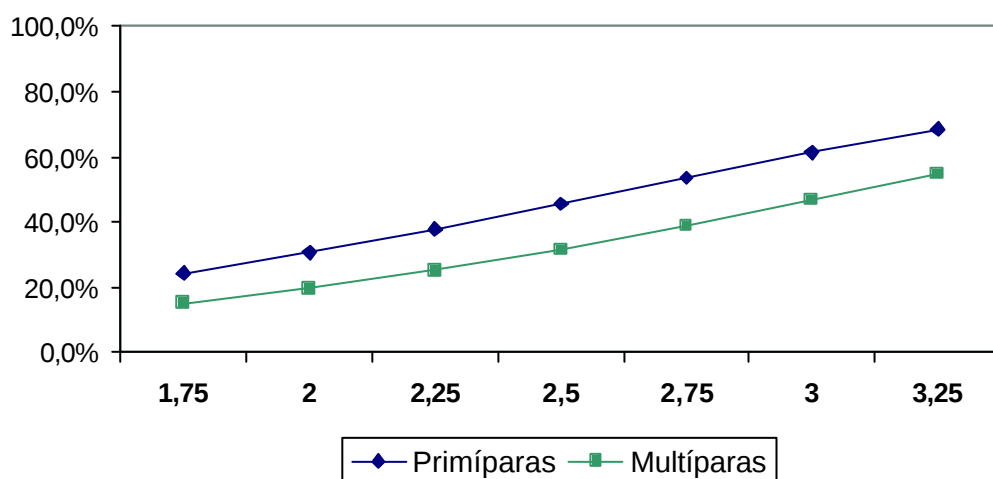


Figura 8 - Taxa de ovulação ao 1ºGnRH de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e múltíparas. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

4.1.4 - Taxa de regressão de corpo lúteo

Não foi verificado nenhum animal que não tenha regredido estruturalmente o CL após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

4.1.5 - Taxa de sincronização da ovulação

Não foi detectado efeito de tratamento ($P=0,45$), ordem de lactação ($P=0,22$) e de ciclicidade ($P=0,12$) na taxa de sincronização da ovulação (Tab. 1).

Vacas que ovularam ao 1º GnRH apresentaram tendência ($P<0,10$) de maior taxa de sincronização da ovulação (Tab. 1).

ECC ($P<0,05$) influenciou a taxa de sincronização da ovulação, independente da ordem de lactação e do tratamento, vacas com menor ECC apresentaram menor taxa de sincronização da ovulação (Fig. 9).

Tabela 1 – Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa sincronização da ovulação.

	ECPsynch	Ovsynch
Tratamentos	CIDR	CIDR
N	52	53
Taxa de Sincronização	73,0%	75,4%
Ordem de Lactação		
Primíparas	67,8% (28)	72,4% (29)
Múltíparas	79,1% (24)	79,1% (24)
Ciclicidade		
Anestro	62,6% (23)	64,0% (27)
Ciclando	77,7% (29)	83,2% (26)
Ovulação 1º GnRH		
Não ovularam	65,5% ^c (29)	65,6% ^c (32)
Ovularam	82,6% ^d (23)	86,3% ^d (21)

^{cd}Valores com letras distintas dentro do tratamento (coluna), diferem entre si ($P<0,10$)

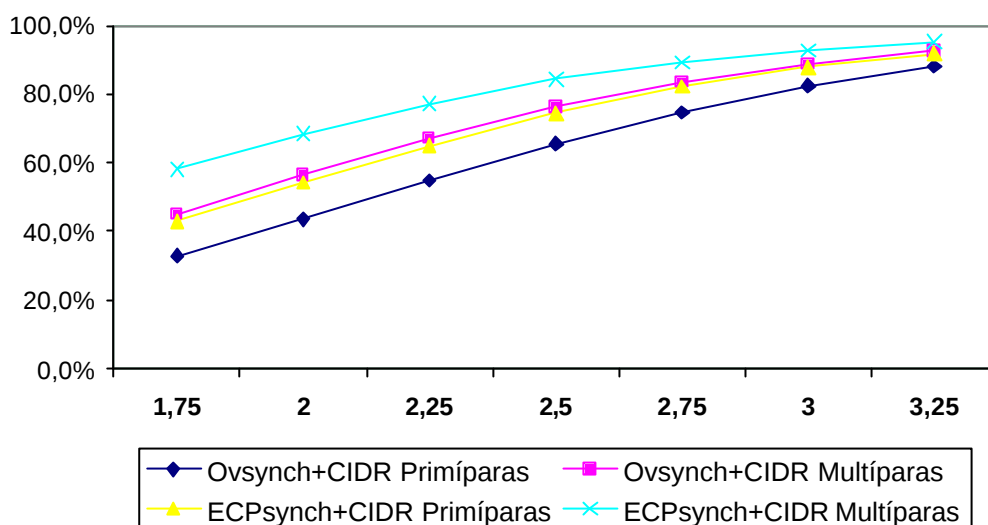


Figura 9 - Taxa de sincronização da ovulação aos protocolos ECPsynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

4.1.6 - Taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF

Houve interação entre tratamentos e ordem de lactação ($P < 0,01$; Tab. 2) na taxa de prenhez a IATF, sendo que o protocolo ECPsynch+CIDR foi mais eficiente nas vacas multíparas (50,0%) em relação ao Ovsynch+CIDR (16,7%) enquanto que nas vacas primíparas o protocolo Ovsynch+CIDR (37,9%) foi superior ao ECPsynch+CIDR (25,0%).

Ciclicidade ($P = 0,59$) e ovulação ao 1º GnRH ($P = 0,18$) não influenciaram a taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF (Tab. 2). Independente da ordem de lactação e do tratamento utilizado, quanto menor o ECC menor foi a proporção de vacas gestantes ($P < 0,01$; Fig. 10)

Nos animais efetivamente sincronizados, incluindo os animais sincronizados antecipadamente (ovulados no momento da IATF), foi detectado interação entre tratamentos e ordem de lactação ($P < 0,01$; Tab.3).

Tabela 2 – Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa prenhez a IATF.

	ECPsynch	Ovsynch
	CIDR	CIDR
N	52	53
Taxa de prenhez	36,5%	28,3%
Ordem de Lactação		
Primíparas	25,0% ^a (28)	37,9% ^b (29)
Múltiparas	50,0% ^b (24)	16,7% ^a (24)
Ciclicidade		
Anestro	34,8% (23)	25,9% (27)
Ciclando	37,9% (29)	30,8% (26)
Ovulação 1º GnRH		
Não ovularam	34,4% (29)	12,9% (31)
Ovularam	39,1% (23)	50,0% (22)

^{ab}Valores com letras distintas entre tratamentos (linha), diferem entre si (P<0,01)

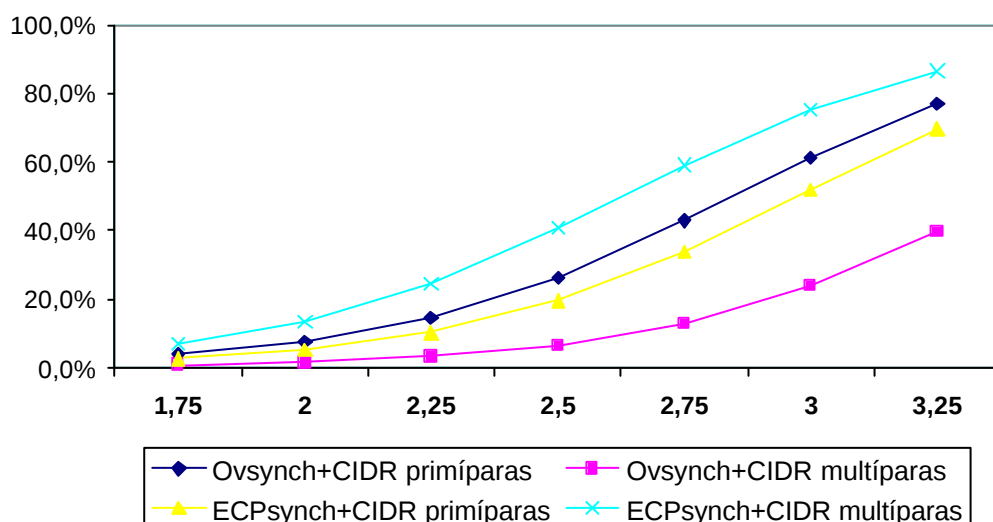


Figura 10 - Taxa de prenhez a IATF aos protocolos ECPsynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e múltiparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

Tabela 3 - Taxa de concepção nos animais efetivamente sincronizados, de acordo com tratamento e ordem de lactação.

	ECPsynch CIDR	Ovsynch CIDR
Ordem de Lactação		
Primíparas	36,8% ^a (19)	52,3% ^b (21)
Múltiparas	63,1% ^b (19)	21,0% ^a (19)

^{ab}Valores com letras distintas entre os tratamentos (linhas), diferem entre si (P< 0,01)

4.1.7 - Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós-detecção de estro

No protocolo GP+CIDR a taxa de demonstração de estro em cinco dias após a aplicação de PGF₂ α (Tab. 4), não foi influenciada por ordem de lactação (P=0,48) e ovulação ao 1° GnRH (P=0,12).

ECC (P<0,10) apresentou tendência de efeito e ciclicidade (P<0,05) influenciou a demonstração de estro (Tab. 4).

A taxa de concepção dos animais inseminados após a observação do estro (grupo controle e protocolo GP+CIDR; Tab. 5), não foi influenciada por tratamento (P=0,60), ordem de lactação (P=0,60) e ciclicidade (P=0,87).

ECC apresentou efeito na concepção (P<0,05), sendo que quando menor a condição corporal dos animais menor foi a taxa de concepção (Fig. 11).

Tabela 4 - Taxa de demonstração de estro por cinco dias após aplicação de PGF₂ α , no protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação, ciclicidade e ovulação ao 1° GnRH.

Tratamento	N	Ordem de Lactação		Ciclicidade		Ovulação 1° GnRH	
		Primíparas	Múltiparas	Anestro	Ciclando	Não ovularam	Ovularam
GP+CIDR	50	65,3%	78,2%	47,6% ^a	83,2% ^b	56,4%	76,9%

^{ab}Valores com letras distintas (linha), diferem entre si (P< 0,05)

Tabela 5 - Taxa de concepção do grupo controle e do protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação e ciclicidade.

	Controle	GP CIDR
N	51	50
Taxa de Concepção	54,2% (35)	48,5% (35)
Ordem de Lactação		
Primíparas	62,5% (16)	43,7% (16)
Múltiparas	47,3% (19)	52,6% (19)
Ciclicidade		
Anestro	50,0% (8)	50,0% (10)
Ciclando	55,6% (27)	48,0% (25)

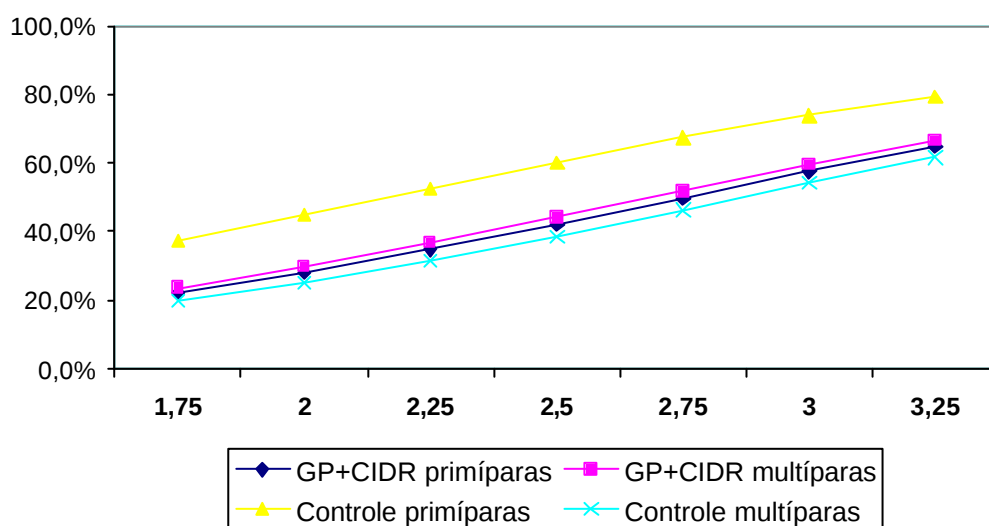


Figura 11 - Taxa de concepção no grupo controle e no protocolo GP+CIDR, em vacas lactantes primíparas e múltiparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

4.1.8 - Taxa de Prenhez Acumulativa

Na avaliação deste parâmetro foi utilizado o contraste 3 (tratamentos individuais vs controle).

Ordem de lactação ($P<0,05$) influenciou a taxa de prenhez acumulativa aos 48 dias, sendo que o protocolo Ovsynch+CIDR (51,7%) foi melhor em vacas primíparas e o ECPsynh+CIDR (66,7%) nas multíparas (Tab. 6).

Nos animais em anestro houve tendência ($P<0,10$) de maior taxa de prenhez acumulativa ao protocolo ECPsynh, enquanto que nas ciclando não houve diferenças (Tab.6).

Tabela 6 – Efeito dos tratamentos na porcentagem de vacas gestantes com 48 dias após período voluntário de espera, de acordo com ordem de lactação e ciclicidade.

	Controle	GP CIDR	ECPsynh CIDR	Ovsynch CIDR
N	51	50	52	53
Prenhez Acumulativa	45,1%	42,0%	51,9 %	45,2%
Ordem de Lactação				
Primíparas	35,7% ^a (28)	26,9% ^a (26)	39,2% ^a (28)	51,7% ^b (29)
Multíparas	56,5% ^a (23)	58,4% ^a (24)	66,7% ^b (24)	37,5% ^a (24)
Taxa de Ciclicidade				
Anestro	19,0% ^c (25)	30,0% ^c (24)	52,1% ^d (23)	29,6% ^c (27)
Ciclando	63,4% ^c (26)	50,0% ^c (26)	51,7% ^c (29)	61,5% ^c (26)

^{ab}Valores com letras distintas entre os tratamentos (linha), diferem entre si ($P<0,05$)

^{cd}Valores com letras distintas entre os tratamentos (linha), diferem entre si ($P<0,10$)

A análise de sobrevivência demonstrou que nas vacas primíparas o protocolo Ovsynch+CIDR ($P<0,10$) apresentou tendência de ser melhor em relação ao protocolo ECPsynh+CIDR (Fig. 12), enquanto nas multíparas o protocolo ECPsynh+CIDR foi superior ao grupo controle ($P=0,05$; Fig.13).

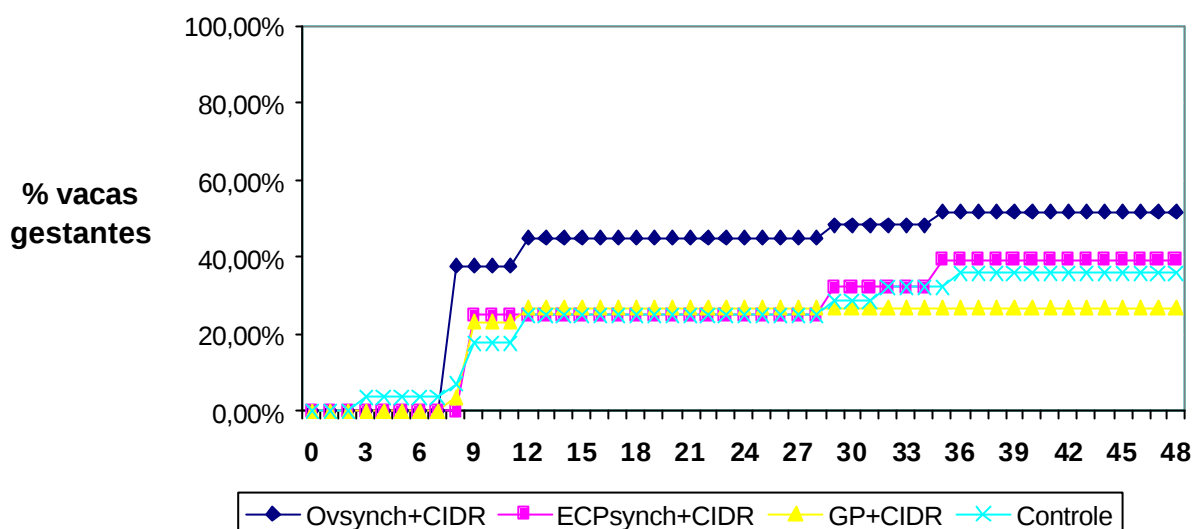


Figura 12 - Proporção de vacas primíparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

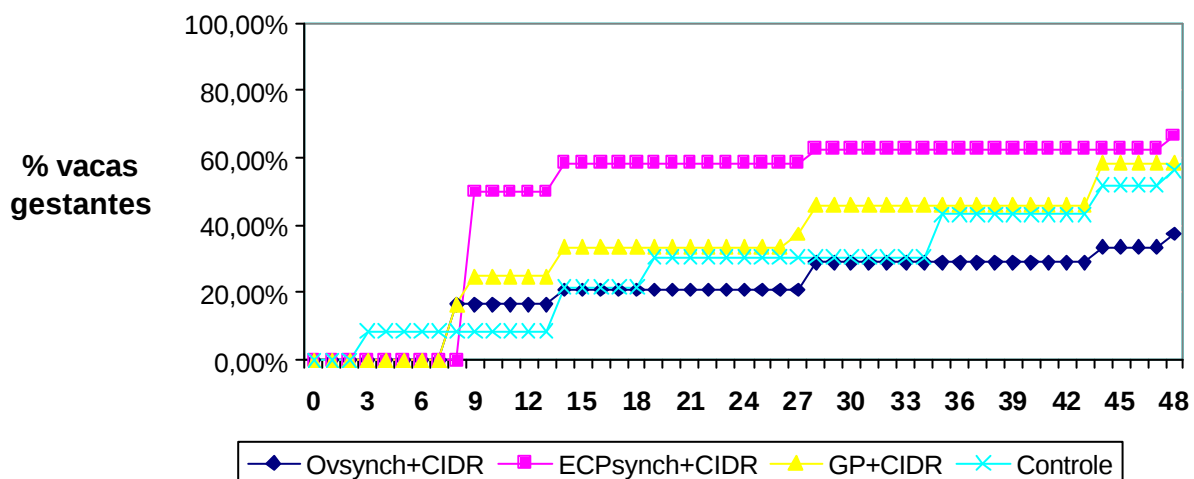


Figura 13 - Proporção de vacas múltiparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Dezembro, 2001.

4.2 – EXPERIMENTO II

4.2.1 - Detecção de estro

A eficiência média da detecção de estro foi de 38,9% (14/36), com 50,0% (18/36) de falhas na observação e 11,1% (4/36) de detecção incorreta de estro. Similar ao experimento I, animais em anestro (n=82) ou com presença do mesmo CL nas duas avaliações (n=81), não foram incluídos na avaliação deste parâmetro.

4.2.2 - Taxa de ciclicidade

Ordem de lactação ($P<0,005$) influenciou a taxa de ciclicidade, sendo de 40,6% (96) nas vacas primíparas e de 73,7% (103) nas multíparas.

ECC apresentou efeito significativo ($P<0,001$) sobre a proporção de animais ciclando, sendo que quanto maior foi a condição corporal, maior a quantidade de vacas ciclando, independente de serem primíparas ou multíparas (Fig. 14).

4.2.3 - Taxa de ovulação ao 1° GnRH

Ordem de lactação ($P=0,35$), ciclicidade ($P=0,42$) e ECC ($P=0,16$; Fig. 15) não demonstraram efeito sobre a taxa de ovulação ao 1° GnRH. Vacas primíparas (n=73) apresentaram 47,9% de ovulação ao 1° GnRH e as multíparas (n=77) 41,5%. Nas vacas em anestro (n=61) a ovulação foi de 47,5% e nas ciclando (n=89) 42,7%, respectivamente.

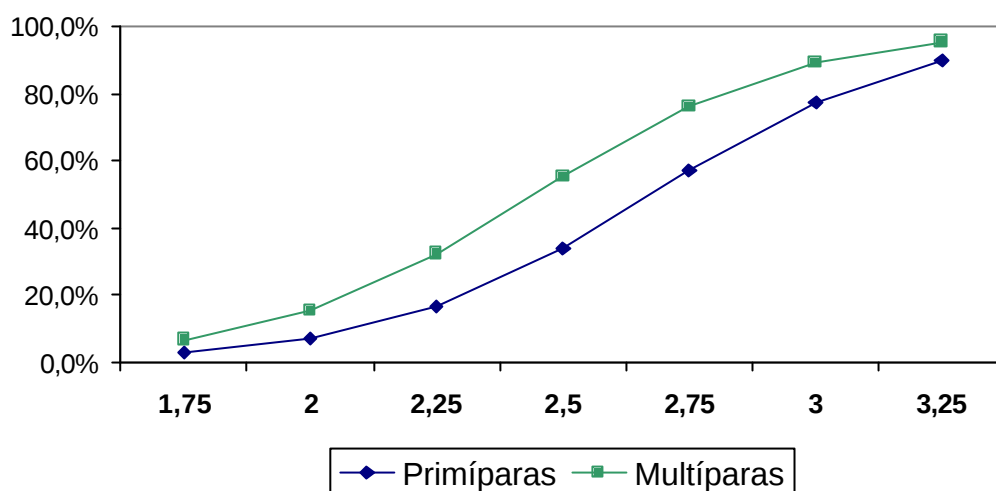


Figura 14 - Taxa de ciclicidade de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e multíparas. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

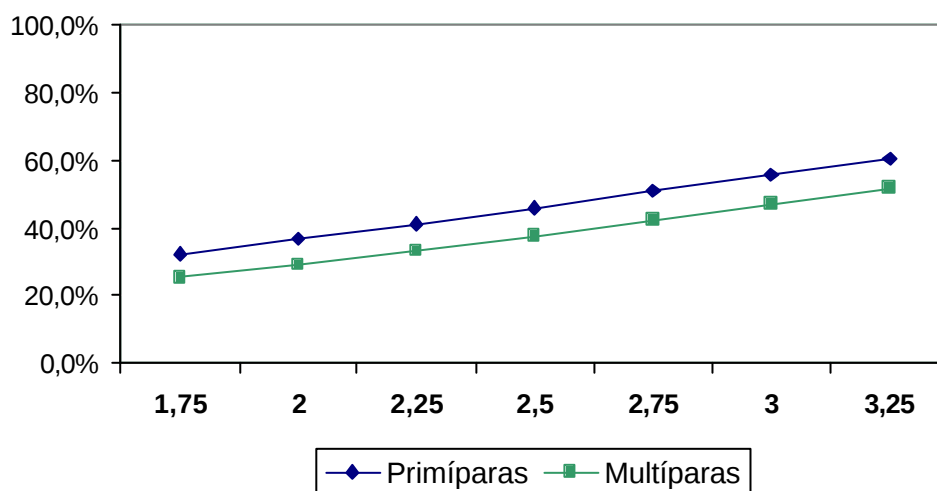


Figura 15 - Taxa de ovulação ao 1º GnRH de acordo com o ECC em vacas lactantes primíparas e multíparas. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

4.2.4 - Taxa de regressão de corpo lúteo

Não foi verificado nenhum animal que não tenha regredido estruturalmente o CL após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$.

4.2.5 - Taxa de sincronização da ovulação

Tratamentos ($P < 0,001$) e ovulação ao 1º GnRH ($P < 0,05$) influenciaram a taxa de sincronização. Não foi detectado efeito de ordem de lactação ($P = 0,36$) e de ciclicidade ($P = 0,12$; Tab. 7) na taxa de sincronização da ovulação.

ECC ($P = 0,82$; Fig. 16) não apresentou efeito sobre a taxa de sincronização.

Tabela 7 – Efeitos de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa sincronização da ovulação.

	ECPsynch	Ovsynch
Tratamentos	CIDR	CIDR
N	50	50
Taxa de Sincronização	60% ^a	80% ^b
Ordem de Lactação		
Primíparas	48,0% (25)	83,3% (24)
Múltiparas	72,0% (25)	76,9% (26)
Ciclicidade		
Anestro	50,0% (22)	71,2% (18)
Ciclando	65,0% (28)	82,6% (32)
Ovulação 1 GnRH		
Não ovularam	42,1% ^A (26)	70,0% ^A (30)
Ovularam	79,1% ^B (24)	100,0% ^B (20)

^{ab}Valores com letras distintas nos tratamentos (linha), diferem entre si ($P < 0,01$)

^{AB}Valores com letras distintas dentro de tratamentos (coluna), diferem entre si ($P < 0,05$)

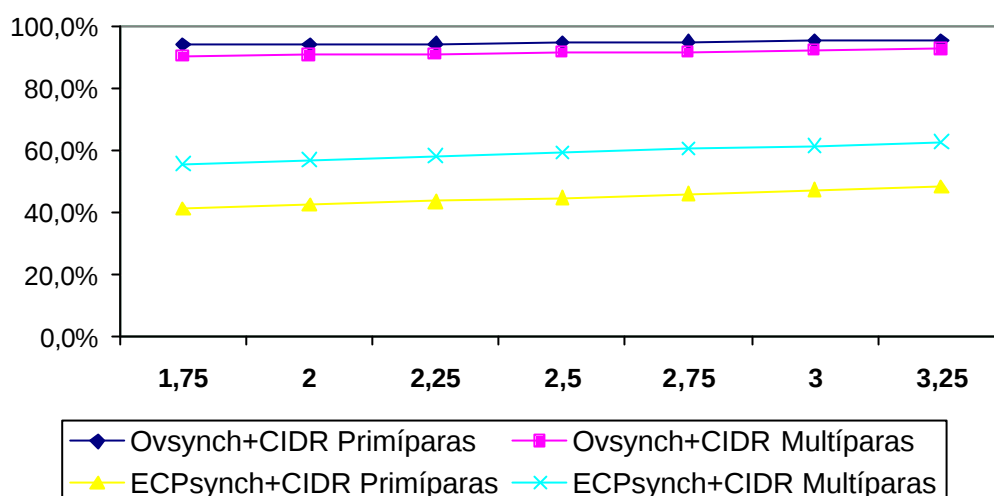


Figura 16 - Taxa de sincronização da ovulação aos protocolos ECPSynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e multíparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

4.2.6 - Taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF

Tratamentos ($P=0,18$), ordem de lactação ($P=0,58$), ciclicidade ($P=0,56$) e ovulação ao 1º GnRH ($P=0,39$) não influenciaram a taxa de prenhez nos animais submetidos a IATF (Tab. 8).

ECC não influenciou a proporção de vacas prenhas ($P<0,25$; Fig. 17).

Nos animais efetivamente sincronizados não se observou efeito de tratamento ($P=0,62$) e de ordem de lactação ($P=0,37$) na taxa de concepção (Tab. 9).

Tabela 8 – Efeito de tratamentos, ordem de lactação, ciclicidade e de ovulação ao 1º GnRH sobre a taxa prenhez a IATF.

	ECPsynch	Ovsynch
	CIDR	CIDR
N	50	50
Taxa de prenhez	30,0%	36,0%
Ordem de Lactação		
Primíparas	28,0% (25)	29,1% (24)
Múltiparas	32,0% (25)	42,3% (26)
Ciclicidade		
Anestro	27,2% (22)	22,3% (18)
Ciclando	32,1% (28)	43,7% (32)
Ovulação 1º GnRH		
Não ovularam	19,2% (26)	36,7% (30)
Ovularam	41,7% (24)	35,0% (20)

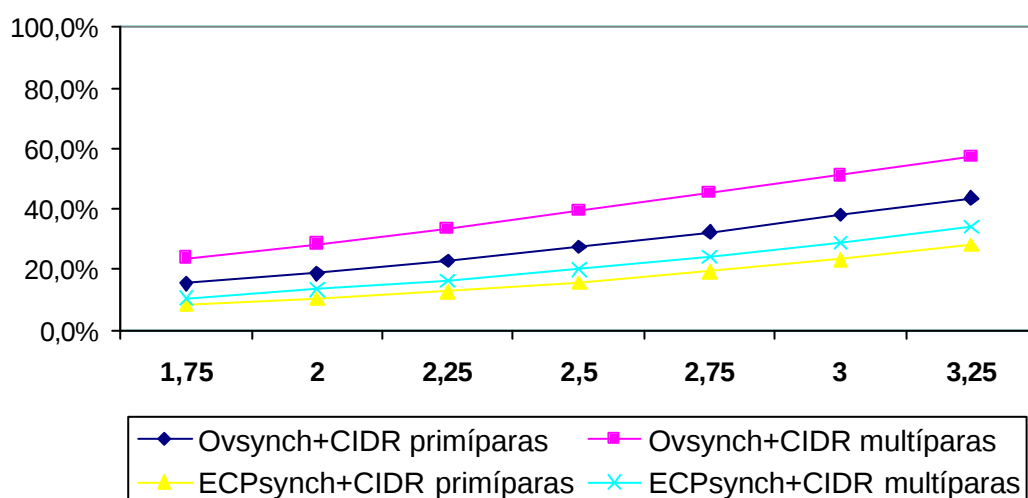


Figura 17 - Taxa de prenhez a IATF aos protocolos ECPsynch+CIDR e Ovsynch+CIDR, em vacas lactantes primíparas e múltiparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

Tabela 9 - Taxa de concepção nos animais efetivamente sincronizados, de acordo com a ordem de lactação e o tratamento.

	ECPsynch	Ovsynch
	CIDR	CIDR
Ordem de Lactação		
Primíparas	58,3% (12)	35,0% (20)
Múltiparas	44,4% (25)	55,0% (26)

4.2.7 - Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós-detecção de estro

No protocolo GP+CIDR a taxa de demonstração de estro em cinco dias após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, não foi influenciada por ordem de lactação ($P=0,43$), ovulação ao 1° GnRH ($P=0,13$) e ECC ($P=0,28$). Entretanto, ciclicidade ($P<0,05$) influenciou a demonstração de estro (Tab. 10).

A taxa de concepção (Tab. 11) não foi influenciada por tratamentos (controle vs GP+CIDR, $P=0,91$), ordem de lactação ($P=0,97$) e ciclicidade ($P=0,49$).

ECC ($P=0,13$) também não influenciou a taxa de concepção (Fig. 18).

Tabela 10 - Taxa de demonstração de estro por cinco dias após aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação, ciclicidade e ovulação ao 1° GnRH.

Tratamento	N	Ordem de Lactação		Ciclicidade		Ovulação 1° GnRH	
		Primíparas	Múltiparas	Anestro	Ciclando	Não ovularam	Ovularam
GP+CIDR	50	45,3%	39,1%	27,8% ^a	61,3% ^b	41,2%	58,0%

^{ab}Valores com letras distintas (linha), diferem entre si ($P<0,05$)

Tabela 11 - Taxa de concepção do grupo controle e do protocolo GP+CIDR, de acordo com a ordem de lactação e ciclicidade.

	Controle	GP CIDR
N	50	50
Taxa de Concepção	40,0% (25)	34,5% (29)
Ordem de Lactação		
Primíparas	33,4% (6)	33,4% (12)
Múltiparas	42,1% (19)	35,3% (17)
Ciclicidade		
Anestro	20,0% (5)	20,0% (5)
Ciclando	45,0% (20)	37,5% (24)

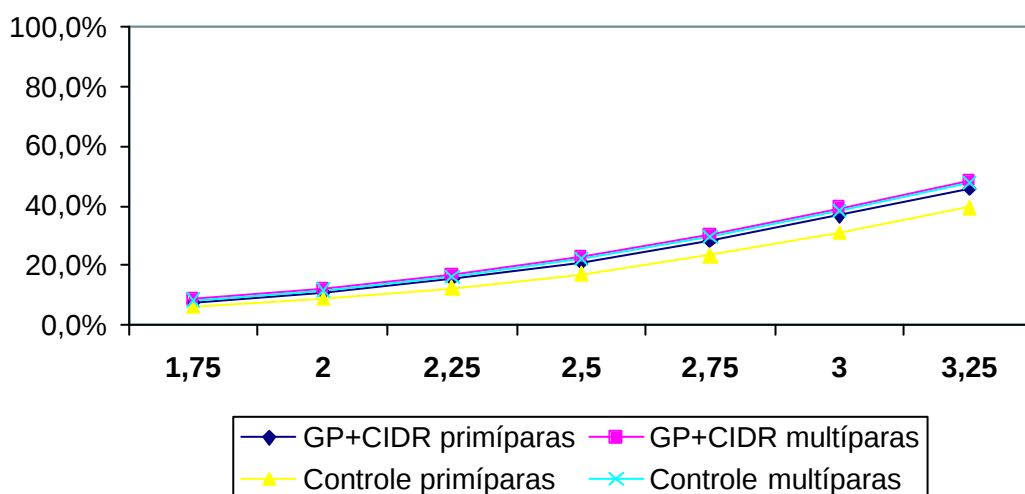


Figura 18 - Taxa de concepção no grupo controle e no protocolo GP+CIDR, em vacas lactantes primíparas e múltiparas, de acordo com o ECC. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

4.2.8 - Taxa de prenhez acumulativa

Como no experimento I, a avaliação deste parâmetro utilizou o contraste 3 (todos tratamentos individuais vs controle).

Foi verificado influencia de tratamentos ($P < 0,05$) e houve tendência de efeito de ciclicidade ($P < 0,10$) na taxa de prenhez acumulativa. Ordem de lactação ($P = 0,59$) não influenciou a prenhez acumulativa (Tab. 12).

ECC ($P < 0,05$) demonstrou efeito na proporção de prenhez acumulativa.

Na análise de sobrevivência as vacas primíparas demonstraram tendência de melhor resposta ao protocolo Ovsynch+CIDR em relação aos outros tratamentos ($P < 0,10$; Fig. 19), já nas vacas múltiparas foi confirmado a superioridade do protocolo Ovsynch+CIDR sobre os demais ($P < 0,02$; Fig. 20).

Tabela 12 - Efeito dos tratamentos na porcentagem de vacas gestantes com 48 dias após período voluntário de espera, de acordo com ordem de lactação e ciclicidade.

	Controle	GP CIDR	ECPynch CIDR	Ovsynch CIDR
N	50	50	51	50
Prenhez Acumulativa	28,5% ^a	26,0% ^a	44,0% ^b	52,0% ^b
Ordem de Lactação				
Primíparas	13,0% (23)	20,8% (24)	28,0% (25)	41,6% (24)
Múltiparas	42,3% (27)	30,8% (26)	60,0% (25)	61,5% (26)
Taxa de Ciclicidade				
Anestro	4,4% ^c (22)	14,2% ^c (21)	36,3% ^d (26)	27,8% ^c (18)
Ciclando	50,0% ^c (28)	34,4% ^c (29)	50,0% ^c (24)	65,6% ^c (32)

^{ab}Valores com letras distintas entre os tratamentos (linha), diferem entre si ($P < 0,05$)

^{cd}Valores com letras distintas (linha), diferem entre si ($P < 0,10$)

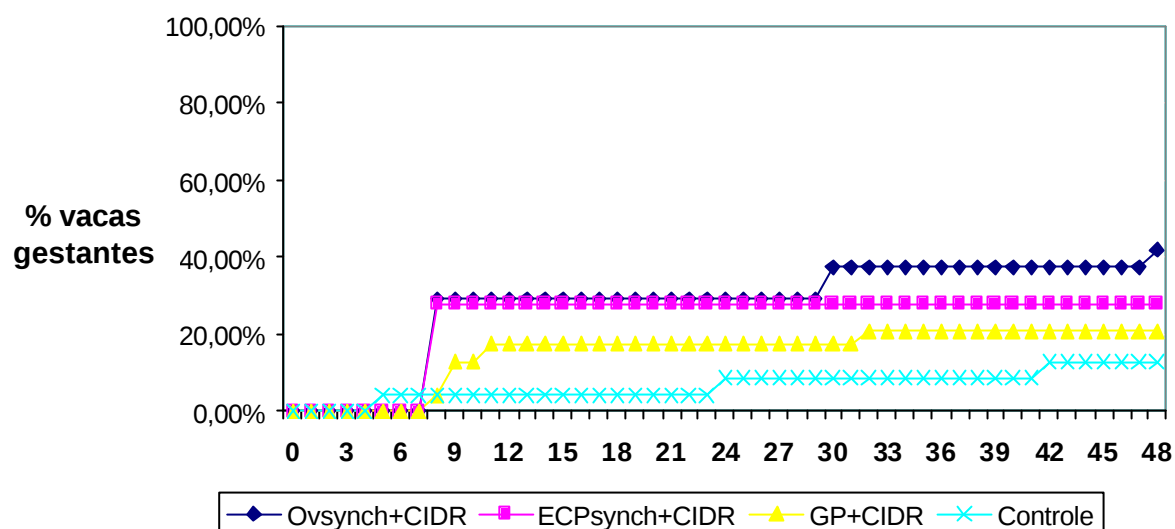


Figura 19 - Proporção de vacas primíparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

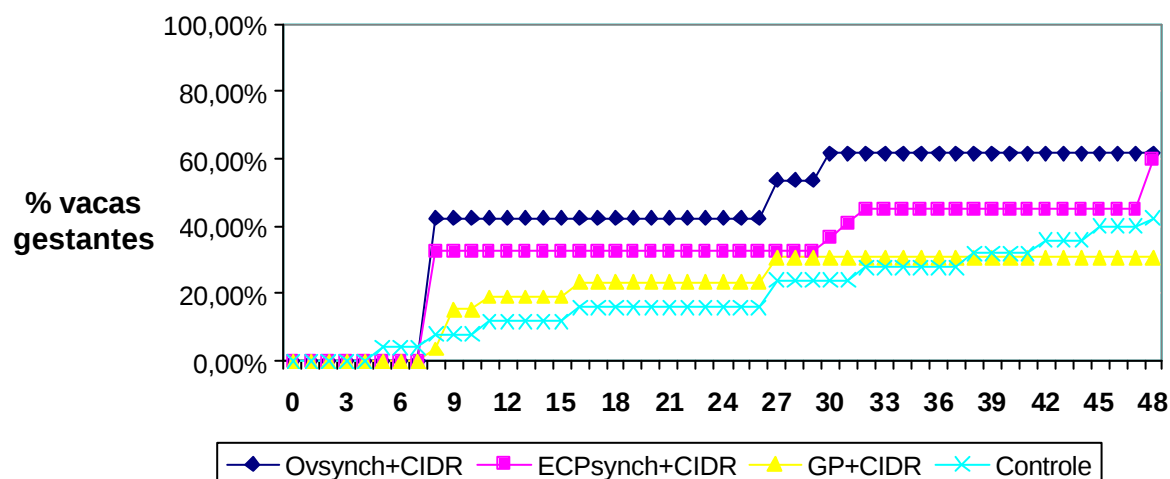


Figura 20 - Proporção de vacas múltiparas prenhes durante os 48 dias do período experimental, de acordo com os tratamentos. Fazenda São Pedro, Fernandópolis – SP, Fevereiro, 2002.

5.0- Discussão

5.1- Experimento 1

5.1.1 - Detecção de estro

A eficiência na detecção de estro em vacas mestiças lactantes, mantidas a pasto (pastejo rotacionado), durante o verão foi de 56,5%, sendo que as falhas na observação representaram 36,8% e a detecção incorreta foi de 6,7%. Fatores ambientais (estresse térmico) podem influenciar o número de montas durante o período de estro (HALL et al., 1959; NEBEL, 1997) e também decrescem a duração e intensidade do estro (POSTON et al., 1962; WILSON et al., 1998).

SPRECHER et al. (1995) relataram que inconsistência na detecção e falta de dedicação na observação do estro por ocupação do pessoal encarregado em outras atividades são fatores que diminuem a eficiência. Isto não ocorreu neste estudo, pois os responsáveis para detecção do estro estavam encarregados somente desta atividade.

Neste estudo, o que se observou foi que devido ao tipo de pastagem utilizada (Colonião e Mombaça) em sistema intensivo de pastejo rotacionado, os animais entravam nos piquetes com pasto em torno de 1,5 metro de altura, ocorrendo dificuldade na visualização e na observação dos animais, o que pode ter contribuído para a diminuição da eficiência na detecção de estro. Além disto, devido às elevadas temperaturas no verão, as vacas após pastarem deitavam nas sombras, também dificultando a detecção.

Baixa eficiência na detecção de estro pode reduzir a performance reprodutiva e indiretamente a produção de leite por dia de intervalo entre partos (BRITT, 1985).

5.1.2 - Taxa de ciclicidade

Vacas primíparas apresentaram menor taxa de ciclicidade ($P < 0,001$) do que as multíparas, sugerindo que o balanço energético negativo (BEN) é mais intenso neste grupo de animais. Estes dados reafirmam a importância de manejo nutricional diferenciado em primíparas pré e pós-parto (BUTLER, 2000), já que fisiologicamente vacas primíparas possuem BEN mais intenso em relação às multíparas, devido a menor ingestão de nutrientes e por necessitarem de maiores requerimentos energéticos para seu crescimento e manutenção (LUCY et al., 1992).

Neste trabalho condição corporal ($P < 0,001$) influenciou a proporção de vacas ciclando, concordando com SHORT et al. (1990), que também verificaram uma relação positiva entre a condição corporal e a taxa de ciclicidade em vacas lactantes pós-parto. De acordo com BEAM & BUTLER, (1997) a acentuada perda de peso ou menor peso pós-parto, acarretam atraso no retorno a ciclicidade, devido à baixa pulsatilidade de LH, que inibe o desenvolvimento do folículo dominante (FD), diminuindo assim a chance do FD produzir estradiol suficiente para desencadear o pico pré ovulatório de LH e ovulação.

Além disso, vacas com BEN intenso apresentam grande mobilização das reservas energéticas pós-parto, elevando a concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e triglicérides, sendo estes metabólitos associados a um maior intervalo para primeira ovulação (KRUIP et al., 1998), juntamente com a diminuição plasmática de glicose, insulina e IGF-1, metabólitos essenciais para a retomada da atividade ovariana (ROCHE et al., 2000).

5.1.3 - Taxa de ovulação ao 1º GnRH

A taxa de resposta à aplicação do 1º GnRH depende da presença de folículo com capacidade ovulatória, no momento do tratamento, sendo que quanto maior a duração da onda folicular, maior a chance de aumentar taxa de ovulação (PURSELY et al., 1995).

A presença ou não de atividade cíclica no momento da primeira aplicação de GnRH não influenciou a taxa de ovulação ao 1º GnRH, resultados semelhantes foram descritos por TWAGIRAMUNGU et al. (1995), onde relataram que a aplicação de GnRH induz à ovulação em vacas de corte, tanto na fase lútea como em vacas acíclicas.

A provável explicação é que as vacas em anestro possuem ondas com menor intervalo de duração, devido a menor pulsatilidade de LH, ou seja, ondas curtas com menor chance de resposta ao 1º GnRH. Já nas vacas mestiças ciclando, conforme observado por VASCONCELOS et al. (2000), há maior proporção de 3 ondas foliculares, ou seja, também com intervalo entre ondas curto, diminuindo assim a chance de resposta ao GnRH.

Estes resultados estão de acordo com os de VASCONCELOS et al. (2000) que observaram em vacas mestiças, no verão, taxa de ovulação ao 1º GnRH de 45,2%, porém inferiores aos observados por VASCONCELOS et al. (1998) em rebanho de vacas Holandesas, de 64,0%. Estas diferenças são provavelmente devido aos diferentes intervalos de duração das ondas foliculares.

A condição corporal influenciou a taxa de ovulação ao 1º GnRH ($P < 0,01$), vacas com menor ECC apresentam menor pulsatilidade de LH (MURPHY et al., 1991), reduzindo assim o diâmetro e a persistência do folículo dominante, ocasionando intervalos entre ondas reduzidos e menor oportunidade de resposta ao primeiro GnRH.

5.1.4 - Taxa de regressão do corpo lúteo

Este trabalho utilizou intervalo de 6 dias entre a aplicação do 1º GnRH e da PGF₂α. Não foi constatado (ultra-sonografia), nenhum animal tenha que ovulado ao 1º GnRH e não tenha apresentado regressão volumétrica do CL.

Estes resultados concordam com vários trabalhos que indicam que a administração de GnRH seguida 6 ou 7 dias mais tarde pela injeção de PGF₂α é um sistema eficaz para a sincronização de estro (COLEMAN et al., 1991; THATCHER et al., 1991; WOLFENSON et al., 1994).

Segundo VASCONCELOS et al. (2000) nas vacas que ovularam ao 1º GnRH, o dia da aplicação de PGF₂α (6 vs 7) não influenciou a taxa de regressão de CL, sendo de 92% no dia 6 e de 100% no dia 7. Entretanto, verificaram nas vacas que receberam PGF₂α no dia 6 melhores taxas de sincronização da ovulação em relação aquelas do dia 7 (71,6% e 58,8%, respectivamente), esta diferença foi associada à maior proporção de animais com três ondas foliculares, ou seja, o intervalo de 6 dias proporcionou maior chance de resposta à sincronização em animais com intervalo entre ondas curto.

ROY & TWAGIRAMUNGU, (1996) relataram que a diminuição do intervalo de 7 para 6 dias resultou em menor incidência de estro prematuro e maior precisão do momento de ocorrência do estro.

A adição de progesterona aos protocolos é efetiva principalmente nas vacas pós-parto, onde têm se observado uma acentuada incidência de regressão prematura do CL, resultado da liberação precoce de PGF₂α pelo útero (HINSHELWOOD et al., 1982; GARVERICK et al., 1992). Nas vacas com regressão prematura do CL, o útero tem maior potencial para liberação de PGF₂α em resposta a ocitocina (MCCRACKEN et al., 1984; ZOLLERS et al., 1989), possuindo mais receptores para ocitocina e poucos

receptores para progesterona no endométrio, explicando assim a maior resposta a ocitocina (ZOLLERS et al., 1993). A luteólise tem início como resultado da elevação e ativação de receptores de estradiol, que induzem um aumento no número de receptores de ocitocina no endométrio, sendo a ocitocina proveniente da neuro-hipófise e do CL. Pré-tratamento com progesterona previne a luteólise prematura, resultando na duração normal do ciclo estral (RAMIREZ-GODINEZ et al., 1981; GARVERICK et al., 1992) e possibilidade de manutenção da gestação (RAMIREZ-GODINEZ et al., 1993; RIVERA et al., 1998).

5.1.5 - Taxa de sincronização da ovulação

A taxa de sincronização ao protocolo Ovsynch+CIDR (75,4%), foi inferior às apresentadas por VASCONCELOS et al. (2000), que obtiveram taxa de 88,9% de sincronização de ovulação, em vacas mestiças lactantes mantidas a pasto.

O protocolo ECPsynch+CIDR (73,0%) também demonstrou resultados inferiores aos observados por PANCARCI et al. (2002), que verificaram 86,5% de taxa de sincronização em vacas HPB, sendo que destes 75,0% ovularam entre 48 a 72 horas após o ECP, com intervalo médio para a ovulação de $55,4 \pm 2,7$ horas, sendo superior aos descritos para o benzoato de estradiol, com $45,3 \pm 2,0$ horas (BARROS et al., 2000).

No presente trabalho a taxa de sincronização apresentou tendência de efeito da resposta à primeira dose de GnRH ($P < 0,10$), sugerindo estratégias que possibilitem aumentar a proporção de animais que ovulem ao 1º GnRH devem ser delineadas, visando o aumento na taxa de sincronização.

Resultados obtidos por VASCONCELOS et al. (1998) verificaram que a taxa de ovulação ao 1º GnRH varia de acordo com a fase do ciclo estral, com menor taxa de ovulação nos dias 1 a 4 (23,0%) e maior taxa de ovulação entre os dias 5 a 9 (96,0%). Apesar da taxa de sincronização após a segunda aplicação de GnRH, não sofrer influência da fase do ciclo estral, ela apresentou variação de acordo com a resposta à aplicação de GnRH, sendo de 92,0% na presença de ovulação e de 79,0% na ausência.

ECC influenciou a taxa de sincronização ($P<0,05$), provavelmente devido a menor pulsatilidade de LH em vacas com menor condição corporal, influenciando o diâmetro e a persistência do folículo dominante, produzindo intervalos entre ondas reduzidos (MURPHY et al., 1991), com menor chance de resposta aos estímulos ovulatórios.

5.1.6 - Taxa de prenhez dos animais submetidos a IATF

No protocolo Ovsynch+CIDR a taxa de prenhez foi de 37,9% nas vacas primíparas e de 16,7% nas vacas múltiparas. A provável explicação para a baixa taxa de prenhez nas múltiparas é que o intervalo de 36 horas entre a aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$, tenha influenciado negativamente estes animais.

PETERS & PURSLEY, (2003) observaram que o aumento no intervalo entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e do segundo GnRH, durante o protocolo Ovsynch, não influenciou a taxa de sincronização (74,8% com 0 horas; 76,8% com 12 horas; 85,7% com 24 horas e 87,8% com 36 horas), porém, aumentou a taxa de prenhez (8,8% com 0 horas; 13,2% com 12 horas; 21,4% com 24 horas e 28,0% com 36 horas).

VASCONCELOS et al. (1998) demonstraram que em vacas com ovulação sincronizada ao protocolo Ovsynch, a demonstração de estro antes do segundo GnRH

foi associada a maior concepção. SARTORI et al. (2000) verificaram que o aumento da concentração sérica de estradiol pós luteólise ocorreu mais rapidamente em novilhas do que em vacas múltiparas, apesar das novilhas apresentarem folículos menores.

RABIEE et al. (2001) demonstraram que em vacas lactantes mantidas a pasto, o metabolismo de esteróides foi influenciado negativamente pela maior IMS, ou seja, animais com maior IMS, possuem maior fluxo de sangue no fígado e conseqüentemente maior metabolismo de esteróides.

Deste modo, possivelmente as vacas primíparas devam atingir maiores concentrações de estradiol antes do que as múltiparas e ao se induzir a ovulação com intervalo de 36 horas, permite as vacas primíparas período adequado de exposição à secreção pulsátil de LH (RAHE et al., 1980), o que possibilitaria ao folículo dominante diferenciar-se num CL normal e com maior capacidade esteroidogênica, necessário para a manutenção da prenhez após a IATF.

Além disso, outras possíveis explicações citadas na literatura que associam a diminuição na taxa de prenhez, em protocolos com intervalos reduzidos entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e a ovulação, são: ovulação de ovócito imaturo e redução da concentração plasmática do estradiol perto da ovulação, com alteração do ambiente uterino e do oviduto (MURDOCH et al., 1988; DE SOUZA et al., 1995).

Já o protocolo ECPsynch+CIDR, apresentou taxa de prenhez de 25,0% nas primíparas e de 50,0% nas múltiparas, entretanto, ao momento da IATF observamos que 22,2% (11/50) dos animais do protocolo ECPsynch+CIDR já estavam ovulados, sendo que destes 8 eram vacas primíparas e 3 múltiparas.

Provavelmente o intervalo médio até a ovulação após aplicação do ECP, seja menor nas vacas primíparas em relação às múltiparas, possibilitando as múltiparas melhores taxas de concepção em intervalo de 48 horas.

Este estudo também demonstrou que o ECC ao início dos protocolos influenciou a taxa de prenhez a IATF ($P < 0,01$), onde vacas com menor ECC apresentaram menor taxa de prenhez. Estes resultados concordam com outros estudos (BURKE et al., 1996; STEVENSON et al., 1999; MOREIRA et al., 2001), que também relataram correlação do ECC com taxa de prenhez, em protocolos de IATF.

5.1.7 - Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós-detecção de estro

A taxa de demonstração de estro em 5 dias após a aplicação de $\text{PGF}_2\alpha$ no protocolo GP+CIDR foi influenciada por ciclicidade ($P < 0,05$), sendo maior em vacas ciclando (83,2%) do que em vacas em anestro (47,6%). Contrariamente, LUCY et al. (2001) relataram em similar protocolo, aumento na porcentagem de manifestação de estro (concentrados nos primeiros três dias pós-remoção do CIDR), sendo efetivo tanto em rebanhos ciclando como em anestro.

Nas vacas ciclando o protocolo GP+CIDR foi mais eficaz, pois os animais apresentaram elevadas taxas de demonstração de estro associado com taxas de concepção similar ao do grupo controle (IA por detecção de estro), mostrando que houve boa regressão de CL e eficiente detecção de estro.

A menor demonstração de estro nas vacas acíclicas pode estar associada a menor secreção pulsátil de LH, com menor produção de estradiol (RHODES et al., 1996).

Com relação à taxa de concepção (protocolo GP+CIDR e grupo controle), não foi verificada qualquer diferença entre tratamentos. De forma semelhante, STEVENSON et al. (1999) também não verificaram diferenças.

Houve influencia do ECC na taxa de concepção ($P < 0,05$), de modo que animais com menores condições corporais foram associados a menores taxas de concepções, concordando com BUTLER & SMITH., (1989) e FERGUSON et al., (1993).

5.1.8 - Taxa de prenhez acumulativa

A importância de se avaliar a taxa de prenhez acumulativa é que este parâmetro associa os resultados de prenhez a IATF, da indução de ciclicidade, de resincronização e de detecção do estro, avaliando de forma mais abrangente a viabilidade da implantação dos protocolos hormonais.

Pela análise de sobrevivência o protocolo Ovsynch+CIDR nas vacas primíparas foi o que apresentou melhor taxa de prenhez a IATF, associado a outro aumento de prenhez entre os dias 12 ao 13, em decorrência aqueles animais que não foram sincronizados, porém devido regressão do corpo lúteo, demonstraram estro entre 5 a 8 dias após a aplicação de $\text{PGF2}\alpha$, variação esta dependente do estágio de desenvolvimento folicular no momento da aplicação de $\text{PGF2}\alpha$ (SAVIO et al., 1990) e durante os dias 29 ao 34 ocorreu novo acréscimo na taxa de prenhez sinalizando que o protocolo foi efetivo em sincronizar a ovulação e houve boa detecção do estro subsequente com resincronização 21 dias após a IATF.

Ainda nas primíparas foi observado que o protocolo GP+CIDR manteve a taxa de prenhez inicial, ou seja a mesma proporção de vacas gestantes, provavelmente devido baixa indução de ciclicidade.

Nas vacas múltíparas, o protocolo ECPSynch+CIDR foi o mais eficiente pois proporcionou melhor taxa de prenhez a IATF, apresentando aumento na taxa de

prenhez entre os dias 13 a 14, devido à demonstração de estro nos animais não sincronizados e entre os dias 27 a 30 pela taxa de resincronização.

Estes resultados indicam que as diferenças nas taxas de prenhez acumulativas foram influenciadas pela eficiência da resposta dos protocolos de IATF, onde protocolos que se destacaram com melhor concepção foram associados com melhores taxas de prenhez acumulativa, estando de acordo com MOREIRA et al. (2000) que também associaram a importância da taxa de prenhez inicial sobre a eficiência na resposta da taxa de prenhez acumulativa.

O protocolo ECPsynch+CIDR foi o que mais se destacou nos animais em anestro tanto na taxa de prenhez a IATF como na acumulativa, demonstrando assim ser viável na indução do pico de LH e induzir ciclicidade nos animais acíclicos.

5.2 - Experimento 2

5.2.1 - Detecção de estro

A eficiência na detecção de estro neste experimento foi de 38,9%, sendo que as falhas na observação representaram 50,0% e a detecção incorreta foi de 11,1%.

A baixa taxa de detecção neste experimento, foi provavelmente devido ao elevado número de lotes ao quais os animais estavam distribuídos (9 lotes), proporcionando menor eficiência na observação do estro, apesar de seguir a mesma metodologia adotada no experimento I.

Além disto os mesmos fatores descritos no experimento I, também influenciaram a detecção do estro, reduzindo assim a performance reprodutiva e indiretamente a produção de leite, já que estende o intervalo entre partos (YOUNGQUIST & BIERSchWAL, 1985).

5.2.2 - Taxa de ciclicidade

Similar ao experimento I, as vacas primíparas também apresentaram menor taxa de ciclicidade ($P < 0,01$) em relação às multíparas, demonstrando que as primíparas possuem balanço energético negativo mais intenso, porque ingerem menos matéria seca e necessitam de maiores requerimentos energéticos para crescimento e manutenção, o que influencia diretamente a primeira ovulação (LUCY et al., 1992).

ECC ($P < 0,001$) também influenciou a proporção de animais ciclando, de modo que acentuada perda de peso ou menor peso pós-parto associado com o menor intervalo pós-parto, proporciona atraso no retorno a ciclicidade, devido à baixa pulsatilidade de LH, que inibe o desenvolvimento do folículo dominante (FD), diminuindo assim a chance do FD produzir estradiol suficiente para desencadear o pico pré ovulatório de LH e ovulação (BEAM & BUTLER, 1997).

5.2.3 - Taxa de ovulação ao 1º GnRH

A presença ou não de atividade cíclica ao momento da primeira aplicação de GnRH, não influenciou a taxa de ovulação ao 1º GnRH, sendo de 47,5% nas vacas em anestro e de 42,7% nas ciclando.

Estes resultados estão de acordo com experimento I, que associa esta falta de diferença provavelmente devido ao intervalo reduzido na duração das ondas foliculares, tanto em vacas em anestro quanto naquela ciclando.

Com relação ao ECC, não foi verificada influência na taxa de ovulação ($P < 0,16$), provavelmente este efeito não foi detectado devido a menor proporção de animais com baixa condição corporal, em relação ao experimento I.

5.2.4 - Taxa de regressão do CL

Como no experimento I, este trabalho também utilizou intervalo de 6 dias entre a aplicação do 1º GnRH e da $\text{PGF}_{2\alpha}$, não verificando por ultra-sonografia, nenhum animal que ovulou ao 1º GnRH e não tenha demonstrado regressão volumétrica do CL.

5.2.5 - Taxa de sincronização da ovulação

A taxa de sincronização ao protocolo Ovsynch+CIDR (80,0%) foi maior ($P < 0,01$) em relação ao protocolo ECPSynch+CIDR (60,0%). Este resultado provavelmente esteja associado a baixa taxa de sincronização das vacas primíparas no protocolo ECPSynch+CIDR (48,0%).

A taxa de sincronização foi influenciada pela resposta à primeira dose de GnRH ($P < 0,01$), reafirmando a importância da taxa de ovulação ao 1º GnRH, na taxa de sincronização da ovulação (VASCONCELOS et al., 1998). MOREIRA et al. (2000) também chegaram a conclusões semelhantes em novilhas, relatando melhores taxas de sincronização quando começaram o protocolo Ovsynch nos dias 5 a 10 do ciclo estral.

A utilização de pré-sincronização, com duas aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ (intervalo de 14 dias), 12 dias antes de iniciar o protocolo Ovsynch, visando aumentar a proporção de vacas com ovulação ao 1º GnRH (entre os dias 5 a 9), é uma estratégia efetiva, pois aumenta a porcentagem de vacas que ovulam ao 1º GnRH e, possibilita aumento da taxa de prenhez (MOREIRA et al., 2001).

Outros estudos avaliaram o efeito de uma única aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, 12 dias antes do Ovsynch e relataram que as taxas de prenhez também aumentaram (CARTMILL et al., 2001) ou não foram afetadas (CORDOBA & FRICKE, 2001).

Deste modo a inclusão de pré-sincronização, com uma ou duas aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ é uma estratégia que está dependente do nível de ciclicidade do rebanho avaliado (CARTMILL et al., 2001).

5.2.6 - Taxa de prenhez dos animais submetidos a IATF

No protocolo Ovsynch+CIDR o intervalo entre a aplicação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ e do segundo GnRH foi de 48 horas e a taxa de prenhez nas vacas primíparas foi de 29,1% e de 42,3% nas multíparas.

No experimento I, o intervalo de 36 horas entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e a aplicação do segundo GnRH, foi associada a menor taxa de prenhez em multíparas.

Entretanto neste experimento ao se utilizar intervalo de 48 horas, verificou-se que a taxa de prenhez nas multíparas atingiu valores superiores numericamente.

Estes resultados sugerem que o intervalo de 48 horas, permite as vacas multíparas período adequado de exposição à secreção pulsátil de LH (RAHE et al., 1980), o que possibilitaria ao folículo dominante diferenciar-se num CL normal e com maior capacidade esteroidogênica, necessário para a manutenção da prenhez após a IATF, além da exposição à maior concentração de estradiol.

Deste modo parece haver um aumento progressivo na taxa de concepção à medida que o intervalo de tempo entre a $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o segundo GnRH aumenta de 0 h, para 12 h, para 24 h, para 36 h (PETERS & PURSLEY, 2003).

No protocolo ECPsynch+CIDR, a IATF foi realizada com intervalo de 36 horas após aplicação do ECP, com taxa de prenhez de 28,0% nas primíparas e de 32,0% nas multíparas, entretanto, nas primíparas a taxa de prenhez foi influenciada pela baixa taxa de sincronização (48,0%).

No experimento I foi sugerido que o intervalo médio até a ovulação após aplicação do ECP, seja menor nas vacas primíparas em relação às multíparas, possibilitando as primeiras melhores taxas de concepção em intervalo de 36 horas, enquanto nas multíparas o intervalo de 48 horas poderia ser mais adequado. Tal fato não se confirmou durante este estudo possivelmente devido à baixa taxa de sincronização atingida pelas vacas primíparas deste protocolo, o que interferiu na taxa de prenhez a IATF

ECC não interferiu na taxa de prenhez, provavelmente devido à taxa de sincronização não ter sido influenciada pelo ECC.

5.2.7 - Taxa de serviço e de concepção nos animais inseminados pós-detecção de estro

A taxa de demonstração de estro em cinco dias após a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no protocolo GP+CIDR foi maior em vacas ciclando (61,3%) do que em vacas em anestro (27,8%).

Como no experimento I, a baixa demonstração de estro nas vacas acíclicas provavelmente esteja associada a menor secreção pulsátil de LH, com menor desenvolvimento do folículo dominante e conseqüentemente baixa produção de estradiol (RHODES et al., 1996).

Nas vacas ciclando o protocolo GP+CIDR apresentou menor eficiência na detecção de estro do que o esperado (no experimento II, foi de 83,2%), possivelmente devido ao maior número de lotes (3 vs 9, experimento I e II, respectivamente), comprometendo a eficiência na detecção do estro.

Não houve influencia do ECC na taxa de concepção ($P < 0,28$), confirmando que mais fatores, além do descrito por BRITT (1994) que sugere efeito do BEN na qualidade do folículo ovulatório por 60 dias após o período de BEN, poderiam interferir na taxa de concepção durante este período.

5.2.8 - Taxa de prenhez acumulativa

Nas vacas primíparas, os protocolos Ovsynch+CIDR e ECPsynch+CIDR apresentaram similar taxa de prenhez a IATF e durante os dias 29 ao 34 ocorreu pequeno acréscimo na taxa de prenhez, sinalizando que possíveis falhas na observação do estro possam ter influenciado a resposta de prenhez acumulativa, nas vacas primíparas.

O protocolo Ovsynch+CIDR foi o mais eficiente nas vacas múltiparas, pois proporcionaram melhores taxas de prenhez a IATF, com eficiência na detecção do estro e efetiva taxa de resincronização, entre os dias 27 a 30.

Estes resultados, como no experimento I, confirmam que as diferenças nas taxas de prenhez acumulativas foram influenciadas pela eficiência da resposta dos protocolos de IATF, onde protocolos que se destacaram com melhor concepção foram associados com melhores taxas de prenhez acumulativa (MOREIRA et al. 2000), reafirmando a importância da taxa de prenhez inicial sobre a eficiência na resposta da taxa de prenhez acumulativa.

6.0 – Conclusões

6.1 – EXPERIMENTO I

- A taxa de ciclicidade foi influenciada por ordem de lactação e condição corporal, demonstrando a importância de se adotar um manejo nutricional eficiente principalmente em vacas primíparas, visando minimizar a perda de peso ou otimizar a recuperação da condição corporal pós-parto.
- Os resultados de IATF (protocolos Ovsynch+CIDR e ECPsynch+CIDR) foram influenciados por condição corporal e ordem de lactação.
- A utilização do ECP (com intervalo de 48 horas até a IATF) foi eficiente em sincronizar a ovulação (73,0%), resultando em taxas de prenhez de 36,5%, sendo que nas vacas multíparas a taxa de prenhez foi de 50,0%.
- No protocolo Ovsynch+CIDR, o intervalo de 36 horas entre as aplicações de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e de GnRH, não foi adequado em proporcionar efetivas taxas de prenhez em vacas multíparas (16,7%), entretanto nas vacas primíparas este intervalo resultou em taxas de prenhez de 37,9%.
- A taxa de serviço do protocolo GP+CIDR foi influenciada por ciclicidade, sendo maior em vacas ciclando (83,2%) do que em vacas em anestro (47,6%).
- A porcentagem de vacas gestantes com 48 dias depende principalmente da taxa de prenhez alcançada na IATF.

6.2 – EXPERIMENTO II

- Apesar do elevado número de lotes (9) para a observação do estro, a baixa eficiência na detecção de estro (38,9%), demonstrou o quanto é importante adotar tecnologias que visem maximizar a taxa de serviço, de modo a diminuir o intervalo parto-concepção.
- A taxa de ciclicidade foi influenciada por ordem de lactação e condição corporal, ressaltando novamente a importância em se adotar manejo nutricional adequado, visando aumentar a eficiência reprodutiva.
- A taxa de sincronização foi influenciada pela resposta a primeira dose de GnRH, sugerindo que estratégias visando maximizar a ovulação ao primeiro GnRH, devem ser delineadas com objetivo de aumentar a taxa de sincronização.
- A utilização do intervalo de 36 horas entre a aplicação de ECP e a IATF, não foi eficiente em sincronizar a ovulação (60,0%), principalmente nas vacas primíparas (48,0%).
- A utilização do GnRH (com intervalo de 48 horas entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e de GnRH) foi eficiente em sincronizar a ovulação (80,0%), resultando em taxas de prenhez de 36,0%, sendo que nas vacas multíparas a taxa de prenhez foi de 42,3%.
- O intervalo de 36 horas entre a aplicação de ECP e a IATF, não proporcionou efetivas taxas de prenhez em vacas primíparas (28,0%) e multíparas (32,0%).
- A taxa de serviço do protocolo GP+CIDR foi influenciada por ciclicidade, sendo maior em vacas ciclando (61,3%) do que em vacas em anestro (27,8%).

7.0- Referências Bibliográficas

- ADAMS, G.P., MATTERI, R.L., KASTELIC, J.P., KO, J.C.H., GUNTER, O.J. Association between surges of FSH and emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v.94, p.177-88, 1992.
- AMBROSE, J.D., KASTELIC, J.P., RAJAMAHENDRAN, R. Pregnancy rates to a timed insemination protocol using estradiol cypionate or GnRH in Holstein heifers and cows. *J. Dairy Sci.*, v.85, suppl.1, p.267, 2002 (abstract).
- BARROS, C.M., MOREIRA, M.B.P., FIGUEIREDO, R.A., TEIXEIRA, R.A., TRINCA, L.A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*), using GnRH, PGF_{2α} and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.53, p.1121-34, 2000.
- BARTOLOME, J.A., SILVESTRE, F.T., ARTECHE, A.C.M., KAMIMURA, S., ARCHBALD, L.F., THATCHER, W.W. The use of Ovsynch and Heatsynch for resynchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography. *J. Dairy Sci.*, v.85, suppl.1, p.99, 2002 (abstract).
- BEAM, S.W., BUTLER, W.R. Energy balance and ovarian follicle development prior to the first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. *Biol.Reprod.*, v.56, p.133-42, 1997.
- BERTICS, S.J., GRUMMER, R.R., CADORNIA-VALINO, C., STODDARD, E.E. Effects of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.1914-28, 1992.
- BO, G.A., ADAMS, G.P., CACCIA, M., TRIBULO, H., MAPLETOFT, R.J. Follicular waves dynamic after estradiol 17β treatment of heifers with or without a progesterone implant. *Theriogenology*, v.41, p.1555-69, 1994.
- BODENSTEINER, K.L., KOT, K., WILTBANK, M.C., GUNTER, O.J. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. *Theriogenology*, v.45, p.1115-28, 1996.
- BRITT, J. H. Enhanced reproduction and its economic implications. *J. Dairy Sci.*, v.68, p.1585-92, 1985.
- BRITT, J.H. Follicular development and fertility: potential impacts of negative balance. *In the Proc. Natl. Reprod. Symp.*, p.103-12, Pittsburgh, PA., 1994.
- BROADWAY, J.L. Optimum timing for insemination of cattle. *J. Anim. Sci.*, v.41, p.352, 1975 (abstract).

- BURKE, J.M., DELASOTA, R.L., RISCO, C.A, STAPLES, C.R., SCHMITT, E.J.P., THATCHER, W.W. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J.Dairy Sci.* v.79, p.1385-93, 1996
- BUTLER, W.R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-1, p. 449-57, 2000.
- BUTLER, W.R., SMITH, R.D. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.72, p.767-83, 1989.
- CARTMILL, J.A., EL-ZARKOUNY, S.Z., HENSLEY, B.A., LAMB, G.C., STEVENSON J.S. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J. Dairy Sci.*, v.84, p.1051-9, 2001.
- COLEMAN, D.A., BARTOL, F.F., SPENCER, T.E., FLOYD, J.G., WOLFE, D.F., BRENDENMUEHL, J.P. Effects of a potent GnRH agonist on hormonal profiles, synchronization of estrus and fertility in beef cattle. *J. Anim. Sci.* V.69, suppl.1, p396, 1991 (abstract).
- COPELIN, J.P., SMITH, M.F., GARVERICK, H.A., YOUNGQUIST, R.S. Effects of the uterus on subnormal luteal function in anoestrus beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.64, p.1506-11, 1987.
- CORDOBA, M.C., FRICKE, P.M. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J. Dairy Sci.*, v.84, p.2700-8, 2001.
- DESOUZA, M.M., MURRAY, M.K. An estrogen-dependent secretory protein, wich shares identity with chitases, is expressed in a temporally and regnanally specific manner in the sheep oviduct at the time of fertilization and embryo development. *Endocrinology*, v.136, p.2485-96, 1995.
- DRANSFIELD, M.B., NEBEL, R.L., PEARSON, R.E., WARNICK, L.D. Timing of insemination for dairy cows identified in estrus by a radiotelemetric estrus detection system. *J.Dairy Sci.*, v.81, p.1874-82, 1998.
- DUFOUR, J., GINTHER, O.J., CASIDA, L.E. Corpus luteum action on ovarian follicular development after destruction of macroscopically visible follicles in ewes. *Pro Soc Exp Biol Med* v.138, p. 475-8, 1971.

- EALY, A.D., DROST, M., HANSEN, P.J. Development changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. *J. Dairy Sci.*, v.76, p. 2899-905, 1993.
- EDWARDS, J.L., HANSEN, P.J. Differential responses of bovine oocytes and preimplantation embryos to heat shock. *Mol. Reprod. Dev.*, v.46, p.138-145, 1997.
- FERGUSON, J. D. et al. Serum urea nitrogen and conception rate: the usefulness of test information. *J. Dairy Sci.*, v.76, p.3742-6, 1993.
- FERNANDES, P., TEIXEIRA, A.B., CROCCI, A.J., BARROS, C.M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, PGF2alpha and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology*, v.55, p.1521-32, 2001.
- FOLMAN, Y. Reproductive management of dairy cattle based on synchronization of estrous cycles. *J. Dairy Sci.*, v.67, p.153 , 1984.
- FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biol. Reprod.*, v.50, p.225-32, 1994.
- GARVERICK, H.A., ZOLLERS, W.G.J., SMITH, M.F. Mechanisms associated with corpus luteum lifespan in animals having normal or subnormal luteal function. *Anim. Reprod. Sci.*, v.28, p.111-24, 1992.
- GINTHER O.J., WILTBANK, M.C., FRICKE, P.M., GIBBONS, J.R., KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.*, v.55, p.1187-94, 1996.
- GINTHER, O.J., KNOFF, L., KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestus cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.*, v.87, p.223-30, 1989.
- GONG, J.C., BRAMLEY, T.A., GUTIERREZ, C.G., PETERS, A.R., WEBB, R. Effects of chronic treatment with a gonadotrophin-releasing hormone agonist on peripheral concentrations of FSH and LH, and ovarian function in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, v.105, p.263-70, 1995.
- GRUMMER, R.R. Estratégias para reduzir a incidência de desordens metabólicas periparto. *VI Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos*, p.60-8, 2002.
- HALL, J.G., BRANTON, C., STONE, E.J. Estrus, estrous cycles, ovulation time, time of service and fertility of dairy cattle in Louisiana. *J. Dairy Sci.*, v.42, p.1086- 94, 1959.

- HINSHELWOOD, M.M., HANSEN, P.J., HAUSER, E.R. Short estrous cycle in postpartum cows as influenced by level of milk production, suckling, diet, season of calving and interval to first estrus. *Theriogenology*, v.18, p.383-92, 1982.
- HORTON, E.W. & POYSER, N.L. Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandine F2 α . *Physiol. Ver.*, v.56, p.595, 1975.
- IMAKAWA, K., DAY, M.L., ZALESKY, D.D., CLUTTER, A., KITTOCK, R.J., KINDER, J.E. Effects of 17 β -estradiol and diets varying in energy on secretion of luteinizing hormone in beef heifers. *J. Anim. Sci.*, v.64, p.805, 1987.
- KASTELIC, J.P., KNOFF, L., GINTHER, O.J. Effect of day of prostaglandin F2 treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.23, p.169-80, 1990.
- KINDER, J.E., DAY, M.L., KITTOCK, R.J. Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *J.Reprod. Fertil.*, v. 49 (Suppl.), p.393-407, 1995.
- KRUIP, T.A.M., MEIJER, G.A.L., RUKKWAMSUK, T., WENSIN, T. Investigation into the mechanisms of reduction in fertility of high yielding cows. In: *Production Diseases in Farm Animals. 10th International Conference on Production Diseases*, Utrecht, the Netherlands, 24-28 August , p.183-90, 1998.
- LARSON, L.L., BALL, P.J.H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology*, v.38, p.255-67, 1992.
- LOWMAN, B.G., ZIMBELMAN, R.G., CASIDA, L.E. Condition scoring of cattle. *Edinburg: The East of Scotland College of Agriculture*. p.1-13, bulletin.6, 1976.
- LUCY, M. C., STEVENSON, J.S., CALL, E.P. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F2 α gonadotropin-releasing hormone and timed insemination. *J. Dairy Sci.*, v.69, p.2186-94, 1986.
- LUCY, M.C. Estratégias de manejo de vacas leiteiras para a melhoria dos índices reprodutivos durante o verão. V *Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos*, p.12-18, 2001.
- LUCY, M.C., BILLINGS, H.J., BUTLER, W.R., EHNIS, L.R., FIELDS, M.J., KESLER, D.J., KINDER, J.E., MATTOS, R.C., SHORT, R.E., THATCHER. W.W., WETTEMANN, R.P., YELICH, J.V., HAFS, H.D. Efficacy of an intravaginal progesterone insert and an injection of PGF_{2 α} for synchronizing estrus and shortening the interval to pregnancy in postpartum beef cows, peripubertal beef heifers, and dairy heifers. *J. Anim. Sci.* v.79, p. 982-95, 2001.

- LUCY, M.C., SAVIO, J.D., BADINGA, L., DE LA SOTA, R.L., THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J.Anim.Sci.*, v.70, p.3615-26, 1992.
- MARTÍNEZ, M.F., KASTELIC, J.P., ADAMS, G.P., COOK, B., OLSON, W.O., MAPLETOFT, R.J. The use progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*, v.57, p.1049-59, 2002.
- MCCRACKEN, J.A., SCHRAMM, W., OKULICZ, W.C. Hormone receptor control of pulsatile secretion of PGF2 α from the ovine uterus during luteolysis and its abrogation in early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, v.7, p.31-56, 1984.
- MOREIRA, F., DE LA SOTA, 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. *J. Anim. Sci.*, v.78, p.1568-76, 2000.
- MOREIRA, F., ORLANDI, C., RISCO, C.A, MATTOS, R., LOPES, F., THATCHER, W.W. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial protocol in lactating dairy cows. *J.Dairy Sci.*, v.84, p. 1646-59, 2001
- MOREIRA, F., RISCO, C., PIRES, M.F.A, AMBROSE, J.D., DROST, M., DELORENZO, M., THATCHER, W.W. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology*, v.53, p.1305-19, 2000.
- MUKASA-MUGERWA, E., TEGEGNE, A., MATTONI, M. Effects of oestrus synchronization with prostaglandin F2 α in Ethiopian highland Zebu (*Bos indicus*) cows. *Anim. Prod.*, v.48, p.367-73, 1989.
- MURDOCH, W.L., VAN KIRK, E.A. Luteal dysfunction in ewes induced to ovulate early in the follicular phase. *Endocrinology*, v.139, p.3480-4, 1988.
- MURPHY, M.G., BOLAND, M.P., ROCHE, J.F. Effect of dietary intake on pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle in beef heifers. *J.Reprod. Fertil.*, v.92, p.333-8, 1991.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. *National Academy Press*, Washington, D.C., 2001.
- NEBEL, R.L.I. Use of radio frequency data communication system, HeatWatch, to describe behavioral estrus in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* (Suppl. 1.): 179 (Abstract), 1997.

- PANCARCI, S.M., JORDAN, E.R., RISCO, C.A, SCHOUTEN, M.J., LOPES, F.L., MOREIRA, F., THATCHER, W.W. Use of ECP in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.122-31, 2002.
- PETERS, M.W., PURSELY, J.R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology*, in press, 2003.
- POSTON, H. A., ULBERG, L.C., LEGATES, J.E. Analysis of seasonal fluctuations of reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.45, p.1376-82, 1962.
- PURSLEY J.R., MEE, M.O., WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ α and GnRH. *Theriogenology*, v.44, p.915-23, 1995.
- PURSLEY, J.R., FRICKE, P.M., GARVERICK, H.A., KESLER, D.J., OTTOBRE, J.S., STEVENSON, J.S., WILTBANK, M.C., NC-113 Regional Research Project. Improved fertility in noncycling lactating dairy cows treated with exogenous progesterone during Ovsynch. *Midwest Branch ADSA 2001 Meeting, Des Moines, IA*; v.63 abstr, 2001.
- PURSLEY, J.R. Synchronization of ovulation in dairy cattle. PhD dissertation, University of Wisconsin, Madison, 1996.
- PURSLEY, J.R., KOSOROK, M.R., WILTBANK, M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.301-06, 1997.
- RABIEE, A.R., MACMILLAN, K.L., SCHWARZENBERGER, F. The effect of level of feed intake on progesterone clearance rate by measuring faecal progesterone metabolites in grazing dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.67, p.205-14, 2001.
- RAHE, C.H., OWENS, R.E., FLEEGER, J.L., NEWTON, H.J., HARMS, P.G. Patterns of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: Dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology*, v.107, p.498, 1980.
- RAMIREZ-GODINEZ, J.A., KIRACOFE, .H., MCKEE, R.M., SCHALLES, R.R., KITOK, R.J. Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. *Theriogenology*, v.15, p.613-23, 1993.
- RHODES, F.M., DE'ATH, G., ENTWISTLE, K.W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, v.38, p.265-77, 1995.

- RHODES, F.M., ENTWISTLE, K.W., KINDER, J.E. Changes in ovarian function and gonadotropin secretion preceding the onset of nutritionally induced anestrus in *Bos indicus* heifers. *Biol.Reprod.*, v.55, p.1437-43, 1996.
- RIVERA, G.M., GONI, C.G., CHAVES, M.A., FERRERO, S.B., BO, G.A. Ovarian follicular wave synchronization and induction in postpartum beef cows. *Theriogenology*, v.49, p.1365- 75, 1998.
- ROCHE, J.F., MACKEY, D., DISKIN, M.D. Reproductive management of postpartum cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60-1, p.703-12, 2000.
- ROTH, Z. Enhanced removal of impaired follicles improves the quality of oocytes collected i n the autumn from summer heat-stressed cows. *Ann. Meeting, Soc. for the Study of Fertility*, Aberystwyth, abstract 78, 1999.
- ROY, G.L., TWAGIRAMUNGU, H. A. A fixed time AI program using the GnRH- PGF- GnRH method for beef females. *J. Anim. Sci.*, v.74, Suppl, p. 222, 1996.
- RUKKWAMSUK, T. et al. Relationship between triacylglycerol concentration in the liver and first ovulation in postpartum dairy cows. *Theriogenology*, v.51, p.1133-42, 1999.
- RYAN, D.P., SNIJDERS, S., YAAKUB, H., O'FARRELL, K.J. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. *J. Anim. Sci.*, v.73, p.3687-95, 1995.
- SALFEN, B.E., CRESSWELL, J.R., XU, Z.Z., BAO, B., GARVERICK, H.A. Effects of the presence of a dominant follicle and exogenous oestradiol on the durationof the luteal phase of the bovine oestrus cycle. *J.Reprod. Fertil.*, v.115, p. 15-21, 1999.
- SARTORI, R., HAUGHIAN, J., ROSA, G.J.M., SHAVER, R.D., WILTBANK, M.C. Differences between lactating cows and nulliparous heifers in follicular dynamics, luteal growth, and serum steroids concentrations. *J. Dairy Sci.* v.83, suppl 1, p.212, 2000 (abstr.)
- SAS Institute Inc., *SAS/STAT Users Guide, version 6*, fourth edition, Cary, NC: SAS Institute Inc., 1989.
- SAVIO, J.D., BOLAND, M.P., HYNES, N., MATTIACI, M.R., ROCHE, J.F. Will the first dominant follicle of the oestrus cycle of heifers ovulate following luteolysis on day 7 ? *Theriogenology*, v.33, p.677, 1990.
- SCHILLO, K.K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J. Anim. Sci.*, v.70, p.3994-4005, 1992.

- SHORT, R.E., BELLOWS, R.A., STAIGMILLER, R.B., BERARDINELLI, J.G., CUSTER, E.E. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v.68, p.799-816, 1990.
- SPRENCER, D.J., FARMER, J.A., NEBEL, R.L., MATHER, E.C. The education implications of reproductive problems identified during investigations at Michigan Dairy Farms. *Theriogenology*, v.43, p.373-80, 1995.
- STEVENSON, J. S., PURSLEY, J.R. Resumption of follicular activity and interval postpartum ovulation after exogenous progestins. *J.Dairy Sci.*, v.77, p.725-34, 1994.
- STEVENSON, J.S., KOBAYASHI, Y., THOMPSON, K.E. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α . *J. Dairy Sci.*, v.82, p.506-15, 1999.
- STEVENSON, J.S., KOBAYASHI, Y., THOMPSON, K.E. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2 α . *J. Dairy Sci.*, v. 82, p. 506-15, 1999.
- STEVENSON, J.S., TIFFANY, S.M., LUCY, M.C. Incidence and timing of estrus, LH surge, and ovulation in cows treated with the Ovsynch protocol with estradiol cypionate (ECP). *J. Dairy Sci.*, v.85, suppl.1, p.99, 2002 (abstract).
- THATCHER, W.W., DROST, M., SAVIO, J.D., MACMILLAM, K.L., ENTWISTLE, K.W., SCHMITT, E.J., DE LA SOTA, R.L., MORRIS, G.R. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* v.33, p.27, 1993.
- TWAGIRAMUNGU, H., GUILBAULT, L.A., DUFOUR, J.J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasin hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, v.73, p.3141-51, 1995.
- VASCONCELOS, J. L. M. Avaliação da sincronização de ovulação e de fatores relacionado com a produção de leite e taxa de concepção em vacas. *Jaboticabal: UNESP- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias*, p.116. Tese (Doutorado em Zootecnia), 1998.
- VASCONCELOS, J.L.M., ARAUJO, T.P.B., CERRI, R.L.A., VALLARELI, R.L., WECHSLER, F.S. Ovulation and synchronization rates in Holstein and crossbred

- lactating dairy cows during two seasons when receiving the PGF2 α injection on d 6 or 7 of the Ovsynch protocol. *J. Dairy Sci.*, v.83, suppl.1, p.214, 2000.
- WALTERS, D.L., SCHALLENBERGER, E. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the periovulatory phase of the oestrus cycle in the cow. *J. Reprod. Fertil.*, v.71, p.503-12, 1984.
- WILSON, S.J., MARION, R.S., SPAIN, J.N., SPIERS, D.E., KEISLER, D.H., LUCY, M.C. Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 1.Lactating cows. *J. Dairy Sci.*, v.81, p.2124-31, 1998.
- WILTBANK, M.C., PURSLEY, J.R., FRICKE, P.M., GARVERICK, H.A., KESLER, D.J. Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. In: AMERICAN EMBRYO TRANSFER ASSOCIATION, 15, 1996, Portland.Anais...Portland,1996. p.23-44.
- WOLFENSON, D., THATCHER, W.W., BADINGA, L., SAVIO, LUCY, M.C. The effects of a GNRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology*, v.42, p.633-40, 1994.
- YOUNGQUIST, R.S., BIERSCHWAL, C.J. Clinical management of reproductive problems in dairy cows. *J. Dairy Sci.* v.68, p.2817-26, 1985.
- ZOLLERS, W.G.J., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F. Oxytocin induced release of prostaglandin F2 α in postpartum beef cows: comparasion of short versus normal luteal phases. *Biol. Reprod.*, v.41, p.262-7, 1989.
- ZOLLERS, W.G.J., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F., MOFFATT, R.J., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrus cycle. *J.Reprod. Fertil.*, v.97, p.329-37, 1993.