

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

ESTRATÉGIAS HORMONAIIS PARA AUMENTAR A TAXA DE
PRENHEZ EM NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES

ADNAN DARIN PEREIRA RODRIGUES

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Dezembro – 2012

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

ESTRATÉGIAS HORMONAIAS PARA AUMENTAR A TAXA DE
PRENHEZ EM NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES

ADNAN DARIN PEREIRA RODRIGUES
Médico Veterinário

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

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre.

BOTUCATU - SP
Dezembro – 2012

DEDICATÓRIA

Aos meus pais **ONEIDE PEREIRA RODRIGUES** e **ADAUTO RODRIGUES**, pelo amor incondicional, carinho, dedicação e por fazerem dos meus sonhos, seus.

Aos meus irmãos **NUBIA**, **AURELLY** e **BRENO** pelo exemplo, carinho e por sempre me apoiarem em tudo.

A toda minha família, por sempre me apoiarem e acima de tudo compreenderem os longos períodos de ausência.

Vocês são meu combustível, minha vontade de fazer mais e ir além...

Muito obrigado, amo vocês.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar sempre presente na minha vida, iluminando meus passos e meus caminhos. Dando conforto nos momentos de dificuldade e apoiando nos momentos de vitória.

Ao meu orientador Prof. Ass. Dr. José Luiz Moraes Vasconcelos, pela oportunidade de participar do seu grupo de pesquisa, pela dedicação, confiança, amizade e ensinamentos profissionais e pessoais. Por sempre mostrar que trabalhando duro, honestamente, com vontade e dedicação podemos ir além.

Ao Prof. Mike Day pela oportunidade de estágio nos EUA. Pela amizade, confiança e auxílio na interpretação dos resultados e escrita dos artigos. Por estar sempre de portas abertas a discutir algum dado ou simplesmente jogar conversa fora. Humildade e simplicidade em pessoa.

Aos meus queridos Professores da graduação Fernando Arévalo Batista e Charles Martins Ferreira. Vocês me abriram os olhos para o conhecimento. Obrigado por sempre acreditarem em mim, me incentivarem e me mostrarem, como diz o Fernandão: “Há um mundo lá fora!”.

A Anhanguera-Uniderp, pela minha formação em Medicina Veterinária, e ao Prof. Wagner Garcia e o GEPA pelos primeiros ensinamentos na área de reprodução.

A todos os amigos da UNIDERP, funcionários e alunos, pelos vários momentos de alegria.

Ao Reinaldo F. Cooke, pela amizade, conselhos, colaboração e valiosos ensinamentos sobre análise estatística.

Aos médicos veterinários Fabio Rocha (Paraíba), Cristovam Vavas (Bola) e Breno Betini (Bigueno), pelos estágios, conversas, conselhos e ensinamentos.

Ao Carlos Scalon da Pfizer, pela indicação e por ter sido o intermediador do meu estágio supervisionado, abrindo as portas junto ao grupo do Prof. Zequinha.

Ao Fernando Aono (Japoneis) pelos vários momentos de diversão, viagens intermináveis e os valiosos ensinamentos durante o período de estágio.

Ao Rogério Fonseca, Ocilon G. Sá Filho e Izaias Claro Jr., por todo o incentivo, ensinamentos, pela imensurável ajuda durante todo o período de mestrado. Muito obrigado por sempre me apoiarem e estenderem a mão quando precisei.

Aos Veterinários: Wagner Romero, Rodolfo Romero, Fernando Peixe, Daniel Schirato, Hugo Graff e Diego Souza pela ajuda na execução dos experimentos, pela amizade e companheirismo.

Meus queridos amigos de Pós-graduação Thiago Biluka, Fernando Aono, Everton Rodolfo, Augusto Aboin, Fernanda Vieira, Tiago Leiva, Lucas Barbosa e Marcos Pereira, obrigado por terem sido minha família enquanto estive em Botucatu.

A todos os moradores da República Karca 1 Gole, pelos vários momentos de alegria, amizade, companheirismo e principalmente pelos almoços!

A todos os amigos de Piracicaba, Michele Bastos, Murilo Meschiatti, Alexandre, Fernanda Zinsly, Pedrinho, Fernanda, Monique, Ricardo por todos os momentos de diversão e alegria.

Ao Leandro H. Cruppe e Fernanda M. Abreu pelo apoio, ajuda, ensinamentos, amizade e diversão durante o período de estágio nos EUA.

Ao Marcos Vinicius Biehl, pelo companheirismo e amizade durante a estadia em Ohio.

Aos amigos de Ohio, Marcão, Tati, Carlão, Martin, Matt, Greg e Martin Mussard, por compartilharem seu tempo comigo e terem feito minha estadia nos EUA melhor ainda.

A todo o pessoal das fazendas da The Ohio State University, pela companhia, por sempre estarem dispostos a me ensinar e pela paciência em repetir as piadinhas até que eu entendesse...

Aos membros e amigos da Conapec Jr., pela amizade e companheirismo durante o período em Botucatu.

A Pfizer Saúde Animal em nome Fernanda Hoe, Mauro Meneghetti, Elci Ferreira por todo o apoio durante a realização dos projetos.

Ao Ricardo Turquetto e Preta, obrigado por terem aberto a porta da casa de vocês, por me receberem e por proporcionarem inúmeros momentos de alegria durante minha estadia em Goiás.

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

A todos os estagiários que participaram deste projeto, a ajuda de vocês foi fundamental. Muito Obrigado.

A todas as fazendas que tive oportunidade de conhecer e realizar os projetos: Fazenda Forquilha (AC), Fazenda Palotina (AM), Fazendas Rio Vermelho, Santa Rosa e Primavera (PA), Fazendas Raça, Rancho 60 e Rio Correntes (MT) e Fazendas Califórnia e Panamá (GO), muito obrigado!

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

Aos membros da banca de qualificação, Ronaldo L. Cerri e Ocilon G. Sá Filho, meu agradecimento pelas sugestões e críticas que contribuíram para melhoria da dissertação.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Pietro S. Baruselli e Prof. Dr. Roberto Sartori Filho, meu agradecimento pelas sugestões e críticas que contribuíram para melhoria da dissertação.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento (CNPq), pela importante bolsa fornecida.

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP), pela importante bolsa fornecida.

A minha grande amiga e violeira preferida, AMANDA PRUDÊNCIO LEMES, por sempre ter acreditado em mim, confiado e que por acaso do destino acabou se tornando minha namorada. Por sempre suportar os longos meses de ausência, pelas conversas intermináveis via internet, pelos conselhos e pela amizade, amo você. Muito obrigado!

As novilhas envolvidas nestes experimentos.

Muito obrigado a todos!

**... “Bom mesmo é ir à luta com determinação,
Abraçar a vida e viver com paixão,
Perder com classe e vencer com ousadia,
Porque o mundo pertence a quem se atreve
E A VIDA É MUITO para ser insignificante”**

(Charles Chaplin)

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	ix
SUMÁRIO DE TABELAS	xi
SUMÁRIO DE FIGURAS	xii
CAPÍTULO 1	1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Aspectos Fisiológicos Relacionados à Puberdade.....	4
2.2. Fatores que Influenciam o Início da Puberdade.....	5
2.2.1. Genética e Idade	5
2.2.2. Nutrição.....	6
2.3. Estratégias para Antecipar a Ocorrência da Puberdade	7
2.3.1. Bioestimulação	7
2.3.2. Nutrição.....	8
2.3.3. Hormônios	10
2.4. Luteólise Prematura no Primeiro Ciclo Estral Pós-Puberdade	12
2.5. Sincronização da ovulação.....	13
2.5.1. Efeito das concentrações circulantes de P4	13
2.5.2. Influência da duração do proestro na fertilidade	14
3. Referências Bibliográficas	16
CAPÍTULO 2.....	24
Estratégias a base de progesterona para induzir ovulação em novilhas Nelore pré-púberes	24
RESUMO.....	25
ABSTRACT	27
1. Introdução	28
2. Materiais e Métodos	29
2.1. Experimento 1	30
2.2. Experimento 2	30
2.3. Experimento 3	31
2.4. Experimento 4	31
2.5. Análise Estatística	32
3. Resultados	33
3.1. Experimento 1	33
3.2. Experimento 2	34
3.3. Experimento 3	34
3.4. Experimento 4	35
4. Discussão.....	35
Agradecimentos.....	39
5. Referências	40
CAPÍTULO 3.....	44

Intervalo entre indução da primeira ovulação e início do protocolo de IATF em novilhas Nelore pré-púberes.....	44
RESUMO.....	45
ABSTRACT	47
1. Introdução	49
2. Material e Métodos	50
2.1. Análise Estatística	52
3. Resultados	53
4. Discussão.....	57
5. Referências	60
CAPÍTULO 4.....	65
CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	- Micrograma
BE	- Benzoato de estradiol
CIDR	- Dispositivo intravaginal de progesterona
CL	- Corpo lúteo
DNC	- Desmame natural recebendo dieta controle
DP	- Desmame precoce
DPC	- Desmame precoce recebendo dieta controle
DPC-R	- Desmame precoce recebendo dieta controle e rica em concentrado
DPR	- Desmame precoce recebendo dieta rica em concentrado e controle
DPR-C	- Desmame precoce recebendo dieta rica em concentrado e controle
E2	- Estradiol
ECC	- Escore de condição corporal
eCG	- Gonadotrofina coriônica equina
ECP	- Cipionato de estradiol
EU	- Escore de útero
EUA	- Estados Unidos da América
g	- Grama
GABA	- Ácido alfa-aminobutírico
GH	- Hormônio do crescimento
GMD	- Ganho médio diário
GnRH	- Hormônio liberador de gonadotrofinas
IA	- Inseminação artificial
IATF	- Inseminação artificial em tempo fixo
IFN-τ	- Interferon-tau
IGF	- Fator de crescimento semelhante à insulina
IGF-1	- Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1
IGFPB	- Proteínas ligadoras do IGF
im	- intra-muscular
INT-C	- Bezerras intactas recebendo dieta controle
INT-R	- Bezerras intactas recebendo dieta rica em concentrado
Kg	- Quilograma
Kg/d	- Quilogramas por dia
LH	- Hormônio luteinizante
mg	- miligramas
MGA	- Acetato de melengestrol
mm	- milímetros
ng/mL	- Nanogramas por mililitro
OVC-C	- Bezerras ovariectomizadas, recebendo dieta controle
OVCE-C	- Bezerras ovariectomizadas, com implante de E2 e dieta controle
OVCE-R	- Bezerras ovariectomizadas, com implante de E2 e dieta concentrado

OVC-R	- Bezerras ovariectomizadas recebendo dieta concentrado
P4	- Progesterona
PGF2 α	- Prostaglandina F2alfa
UI	- Unidades internacionais
US	- Ultrassonografia

SUMÁRIO DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Tabela 1.....	10
Resumo dos resultados obtidos por Gasser e colaboradores em seus estudos. Adaptado de Day, et al. 2009	
CAPÍTULO 2	
Tabela 1.....	35
Resumo dos resultados para estro, indução da ovulação e taxa de concepção em todos os experimentos	
CAPÍTULO 3	
Tabela 1.....	56
Presença de corpo lúteo no Dia 9, diâmetro folicular nos dias 9 e 11, taxas de ovulação, concepção e prenhez em novilhas submetidas ao protocolo de IATF em diferentes dias após a indução de puberdade (Grupos)	

SUMÁRIO DE FIGURAS

	Página
CAPÍTULO 1	
Figura 1.....	4
Características dos eventos que precede a puberdade em novilhas	
CAPÍTULO 2	
Figura 1.....	29
Diagrama esquemático do modelo experimental básico. Dias -19 e -12, avaliações ultrassonográficas para determinar a ausência de corpo lúteo. Entre Dias -12 e 0 novilhas Nelore pré-púberes receberam um CIDR de 4 ^o uso. Dia 0, remoção do CIDR e as novilhas eram aleatoriamente distribuídas para receberem os tratamentos em cada experimento. Detecção de estro entre Dias 1 e 8. Experimento 1: Novilhas aleatoriamente distribuídas para receberem, nenhum tratamento adicional (CIDR-0; n = 177) ou CIDR-4 (n = 862) entre os Dias -12 e 0. Nos Experimentos 2, 3 e 4, novilhas foram aleatoriamente distribuídas aos tratamentos no Dia 0. Experimento 2: Controle (n = 450) e eCG (n = 446); Experimento 3: Controle (n = 168), eCG (n = 335) e eCG+ECP (n = 336); Experimento 4: Controle (n = 235), eCG (n = 234), eCG+ECP (n = 234) e ECP (n = 245).	
CAPÍTULO 3	
Figura 1.....	51
Diagrama esquemático do modelo experimental. Protocolo para indução da primeira ovulação em novilhas Nelore pré-púberes [12] iniciado com intervalo de 2 dias entre cada. Dia 0, início do protocolo de IATF nos grupos experimentais formados: Grupo10 – Protocolo de IATF iniciado 10 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação; Grupo12– Protocolo de IATF iniciado 12 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação; Grupo14 – Protocolo de IATF iniciado 14 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação. US: avaliação ultrassonográfica (Dias 0, 9 e 41); Sg: Colheita de sangue para dosagem sérica de P4 (Dias 9 e 18)	
Figura 2.....	54
Relação entre concentração de P4 no Dia 9 e diâmetro folicular no Dia 11 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF	
Figura 3.....	54
Relação entre diâmetro folicular no Dia 9 e diâmetro folicular no Dia 11 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF	

Figura 4.....	55
Probabilidade de ovulação de acordo com o diâmetro folicular no Dia 11 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF	
Figura 5.....	55
Probabilidade de concepção de acordo com o diâmetro folicular no Dia 9 (a) e 11 (b) em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF	
Figura 6.....	56
Probabilidade de concepção de acordo com a concentração de P4 no Dia 9 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF	
Figura 7.....	57
Taxa de concepção e prenhez em novilhas classificadas como Baixa ($\leq 2,8$ ng/mL; a) ou Alta P4 ($> 2,8$ ng/mL; b) de acordo com o tratamento em novilhas Nelore submetidas à IATF	

CAPÍTULO 1
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovino do mundo, com cerca de 174.090.818 de cabeças (ANUALPEC, 2011), e a maior área agricultável do planeta (aproximadamente 20%), destacando-se não somente pelo tamanho do rebanho, mas também pelo potencial de crescimento. Dentro deste rebanho cerca de 20.707.973 de cabeças são novilhas de 1 a 2 anos e 12.417.445 são novilhas de 2 a 3 anos.

O que torna o Brasil forte e competitivo no mercado é o baixo custo de produção quando comparado a países onde a alimentação animal baseia-se fundamentalmente em grãos. Estima-se que aproximadamente 80% dos animais sejam classificados como aptidão para corte, que são animais que podem ser mantidos a pasto com menor custo de produção e boa capacidade de adaptação (ANUALPEC, 2011).

Apesar de todos estes números impressionantes, o Brasil apresenta uma taxa de desfrute bem abaixo da dos outros principais países produtores de carne. Nos EUA, a taxa de desfrute anual do rebanho é de 38%; na Austrália 30,9% e no Brasil de apenas 19,2% (SCOT CONSULTORIA, 2012). Esse número parece ser um péssimo indicador, porém isso nos mostra que temos muito que trabalhar para melhorar a eficiência da pecuária. Visto que a área atual destinada às atividades agroindustriais não deverão ser expandidas, o aumento da produção deverá ocorrer de maneira vertical, aumentando a produção sem aumentar a área de pastagens, ou seja, melhorar a eficiência.

Em fazendas de cria, a produção de um bezerro/matriz/ano é o principal objetivo e, portanto, o atraso na gestação e conseqüentemente na produção de bezerros diminui o sucesso econômico da atividade. O grande número de novilhas pré-púberes no início da estação de monta é um entrave para que os produtores possam lucrar com a atividade. Novilhas que parem mais cedo têm maior vida reprodutiva do que as mais tardias. Assim, novilhas que apresentam o primeiro parto próximo aos 24/25 meses de idade, ou seja, primeira cobertura/inseminação artificial aos 15 meses, atingem a produtividade máxima (PATTERSON et al., 1992), pois produzem mais bezerros durante sua vida produtiva (MARTIN et al., 1992).

Animais de origem *Bos taurus* apresentam puberdade mais cedo e com uma menor relação de peso corporal adulto quando comparados a novilhas *Bos indicus* (RODRIGUES, et al, 2002). Geralmente, em novilhas *Bos taurus* a puberdade ocorre entre 10 e 15 meses com cerca de 270 a 350 Kg (FERRELL, 1982). Animais *Bos indicus* a puberdade ocorre tardiamente entre 22 e 36 meses, refletindo na idade ao

primeiro parto, que está entre 44 - 48 meses de idade (NOGUEIRA, 2004). Novilhas cruzadas apresentam puberdade mais tardiamente que novilhas *Bos taurus* (PERRY et al., 1991), porém mais cedo que novilhas *Bos indicus* (RESTLE et al., 1999).

A baixa pressão de seleção para precocidade sexual pode ser vista como um dos fatores que contribuíram para a elevada idade a puberdade nos animais de origem *Bos indicus*. Em uma avaliação de sete consecutivas estações de monta e avaliando da probabilidade de prenhez aos 14 meses em novilhas Nelore e suas crias, Eler e colaboradores (2004) encontraram valores elevados de herdabilidade ($0,57 \pm 0,01$) para probabilidade de prenhez aos 14 meses em novilhas Nelore e suas crias.

Dada a importância da puberdade e antecipação da idade ao primeiro parto para o sistema de cria, o objetivo deste estudo foi avaliar estratégias associadas ao protocolo de indução de puberdade com progesterona (P4) que pudessem proporcionar maior número de novilhas sendo induzidas e conseqüentemente prenhes no início da estação de monta.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos Fisiológicos Relacionados à Puberdade

De acordo com Day et al. (1998), o período do nascimento até a puberdade nas novilhas *Bos taurus* pode ser dividido em quatro fases, começando com um período infantil (nascimento até dois meses de idade), onde são observados baixos níveis de LH, provavelmente devido a uma baixa resposta da hipófise ao GnRH, porém essa produção aumenta gradativamente, demonstrando haver um aumento na resposta da hipófise ao GnRH; Em seguida, há um período de desenvolvimento (2 a 6 meses de idade), em que há maiores concentrações de gonadotrofinas comparadas ao período infantil, porém com o aumento na produção de estrógenos pelas gônadas ocorre uma inibição na liberação de gonadotrofinas iniciando a fase estática (6 a 10 meses de idade), na qual as concentrações circulantes de LH permanecem baixas até a próxima fase, denominada período peripuberdade.

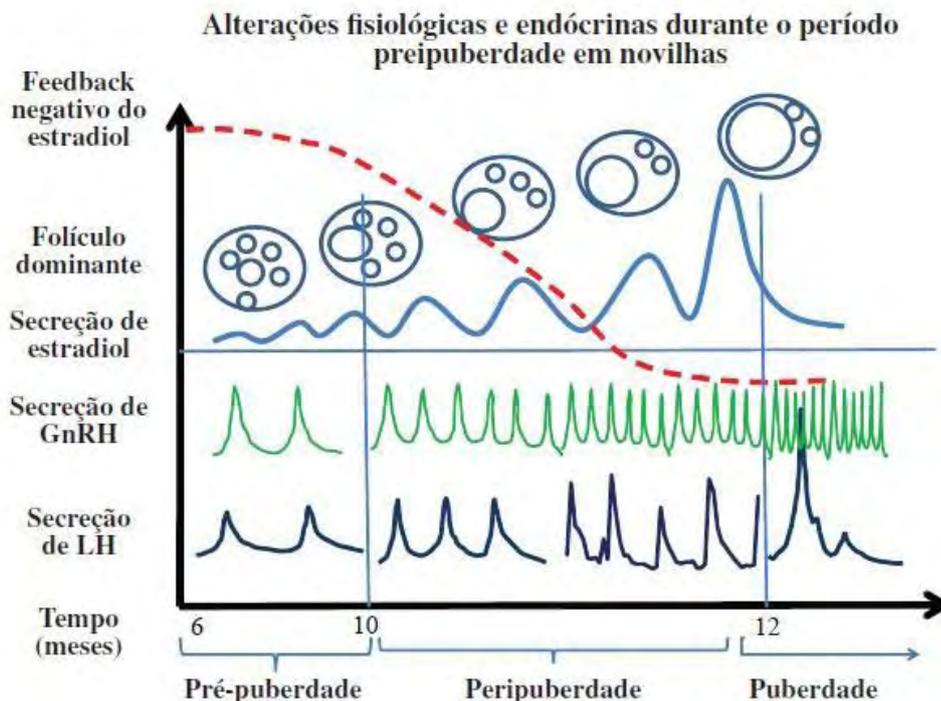


Figura 1 - Características dos eventos que precede a puberdade em novilhas. Adaptado de Maquivar et al (2009).

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

atraso no aumento da secreção de LH (DAY et al., 1986) ou através da imunização das novilhas contra GnRH (WETTEMANN et al, 1994).

Basicamente, para ocorrência da puberdade é necessária uma gradativa diminuição da sensibilidade hipotalâmica ao estradiol, conseqüentemente elevando a liberação de LH, que estimula o crescimento folicular e a produção de estrógeno. O aumento na produção de estrógeno causa uma retroalimentação positiva no hipotálamo, liberando pico de GnRH, estimulando à hipófise a liberação do pico pré-ovulatório de LH que culmina com a ovulação do folículo dominante e formação do corpo lúteo (EVANS, et al, 1994). Diversos autores (BYERLEY et al, 1987; EVANS, et al, 1994) relataram a ocorrência de ciclo estral de curta duração após a primeira ovulação em novilhas, ou seja, o corpo lúteo sofre luteólise precocemente antes do décimo primeiro dia do ciclo estral.

2.2. Fatores que Influenciam o Início da Puberdade

2.2.1. Genética e Idade

A idade é um dos principais fatores envolvidos na puberdade, caracterizando a precocidade sexual dos animais, por isto é um importante referencial nos programas de melhoramento genético (BERGMANN et al., 1996). Sendo que a idade esta relacionada à raça dos animais, visto que em animais taurinos a manifestação da puberdade ocorre geralmente entre 10 a 15 meses (FERREL, 1982), já em zebuínos acontece em idade mais avançada, variando de 22 a 36 meses (SOUZA et al., 1995). Por outro lado, novilhas cruzadas à idade a puberdade acontece tardiamente quando comparada a novilhas taurinas, porém mais cedo se comparadas às novilhas zebuínas (PERRY et al, 1991; RESTLE et al., 1999) ocorrendo por volta dos 15 meses (GALINA et al., 1989).

De acordo com Martin et al. (1992), o desempenho reprodutivo das fêmeas depende da idade em que essas parem pela primeira vez, e novilhas que parem mais cedo tem maior vida produtiva em relação as novilhas que atingem a puberdade em idade mais avançada.

A estimativa média de herdabilidade para a probabilidade de prenhez precoce em fêmeas Nelore foi igual a 0,32 (MEIRELLES, 2004) e, segundo Eler et al (2002) a utilização da idade à primeira gestação como critério de seleção tem apresentado alta herdabilidade (0,57).

Diversos estudos têm relatado a influência do grau de sangue na idade a puberdade e prenhez na primeira estação de monta. Rocha et al. (2002) observaram que novilhas cruzadas com maior grau de sangue zebuino ($\frac{3}{8}$ Nelore – $\frac{5}{8}$ Hereford) apresentaram menor eficiência em emprenhar quando comparadas a novilhas com maior grau de sangue taurino (Hereford e $\frac{1}{4}$ Nelore $\frac{3}{4}$ Hereford). Da mesma forma, Patterson et al. (1991) trabalhando com fêmeas *Bos taurus* e *Bos taurus* x *Bos indicus*, observaram maior proporção de novilhas taurinas púberes no início da estação de monta (93,0% vs. 67,0%, respectivamente) e maiores taxas de prenhez após 45 dias de estação de monta (89,0% vs. 71,0%, respectivamente).

Para que a primeira cria ocorra aos dois anos de idade, é necessário usar uma combinação que envolva o aspecto nutricional, peso ideal e seleção para puberdade precoce (TRAN et al., 1988), um grande desafio à pecuária brasileira, especialmente no cenário do Brasil Central.

2.2.2. Nutrição

O sistema no qual é realizada a recria dos animais em sua maioria constitui apenas de alimentação a pasto, o que em geral pode atrasar o crescimento e idade a puberdade (DAY et al, 1986, PATTERSON, et al, 1992), pois a restrição alimentar suprime a pulsatilidade de LH (YELICH et al., 1996).

A nutrição exerce uma forte influência na idade à puberdade (MAQUIVAR et al, 2009), porém esse mecanismo ainda não está bem elucidado. Diversos estudos têm demonstrado que novilhas submetidas a diferentes ganhos de peso apresentam diferenças na idade sem apresentar diferenças no peso à puberdade (PATTERSON et al, 1992). Por outro lado, novilhas submetidas à restrição alimentar apresentaram atraso na idade à puberdade quando comparadas as novilhas alimentadas *ad libitum* (PATTERSON et al, 1992; BERGFELD, et al, 1994; ROBERTS, et al, 2009), consequência de alterações no padrão de liberação de LH (DAY, et al, 1986; KURZ, et al, 1990).

Diferentes fatores parecem estar envolvidos no mecanismo pelo qual a nutrição afeta a liberação de GnRH e, conseqüentemente, o início da puberdade. Dentre eles, podemos citar leptina, IGF-1, GABA, glutamato, neuropeptídeo Y, ativina, inibina (CARDOSO et al., 2007) e mais recentemente, um novo peptídeo e seus receptores foram identificados como possíveis reguladores chave na ativação dos neurônios GnRH (kisspeptin, receptor GPR54; MAQUIVAR et al, 2011). Além disso, é sabido que

neurônios liberadores de GnRH não expressam receptores para estradiol e portanto, há à hipótese da existência de uma rede de comunicação entre os neurônios do hipotálamo e a ação de diferentes hormônios citados acima, modulando essa resposta (MAQUIVAR, et al, 2011).

A leptina é uma proteína secretada pelos adipócitos e atua regulando a ingestão de alimentos, balanço energético e no eixo neuroendócrino. Uma das suas principais funções é agir como um sinal periférico de saciedade para o hipotálamo, transmitindo informações sobre o estado nutricional do indivíduo (GAMBA et al., 2006). Em vacas sob restrição alimentar, a secreção de leptina é reduzida drasticamente, acompanhada por redução do ECC e uma diminuição na liberação de LH (BARB e KRAELING, 2004 apud EMERICK et al., 2009). A leptina está relacionada aos neurônios β -endorfina, que por sua vez influenciam os neurônios produtores de GnRH, e os neuropeptídios Y os quais atuam no controle da saciedade (GAMBA et al., 2006).

A restrição alimentar leva à diminuição das concentrações de leptina e aumento nos neuropeptídios Y, que conseqüentemente reduzem liberação hipotalâmica de GnRH. O neuropeptídio Y está presente no cérebro e é abundante no núcleo arqueado do hipotálamo, durante os períodos de desnutrição (GAMBA et al., 2006). Nos bovinos, o núcleo arqueado também contém neurônios que secretam GnRH. A inervação nesta região permite ao neuropeptídio Y atuar diretamente nos neurônios desta área, influenciando, dessa forma, o balanço energético, a secreção de GnRH e o comportamento sexual (GAMBA et al., 2006; EMERICK, et al, 2009). Basicamente, a leptina age como um fator permissível à ocorrência da puberdade, modulando a resposta do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas.

O IGF age promovendo o crescimento das células da granulosa e estimula a produção de E2 pelos folículos antrais. As proteínas ligadoras ao IGF (IGFBP) têm um efeito negativo na ação do IGF, por se ligarem aos seus receptores diminuindo a quantidade de IGF livre no fluido folicular. As IGFBPases são responsáveis pela quebra das proteínas ligadoras, mantendo maiores concentrações de IGF livre no fluido folicular (FORTUNE et al., 2004).

2.3. Estratégias para Antecipar a Ocorrência da Puberdade

2.3.1. Bioestimulação

A bioestimulação ou “efeito macho” como também é conhecida, consiste na exposição de fêmeas pré-púberes a machos adultos, a fim de estimular a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gônadas (QUADROS et al., 2004), através do estímulo físico e também pela liberação de feromônios (CHENOWETH, 1983).

Fêmeas bioestimuladas através da urina de touros (IZAARD et al., 1982) ou por rufiões da raça Jersey (QUADROS et al., 2004), apresentaram maiores taxas de animais cíclicos no início da estação de monta. No estudo de Izaard et al. (1982), a taxa de prenhez ao final da estação de monta foi semelhante entre os tratamentos, porém as novilhas bioestimuladas pariram mais cedo na estação de parição. Quadros et al. (2004) encontraram uma maior taxa de prenhez ao final da estação de monta para as novilhas bioestimuladas (90%) comparadas às novilhas do grupo controle (73%). Além disso, os autores observaram que o efeito foi dependente da idade/peso vivo, já que novilhas mais velhas e mais pesadas apresentaram melhor resposta ao estímulo. Oliveira et al. (2007) também encontraram maior proporção de novilhas púberes e maiores taxas de prenhez em novilhas Nelore bioestimuladas aos 19 meses.

Em outro estudo utilizando rufiões Holandeses para bioestimular novilhas Nelore, foi avaliado o efeito do tratamento nas dimensões das estruturas ovarianas, nas taxas de concepção, prenhez e no ganho de peso. Nas novilhas bioestimuladas a taxa de prenhez foi de 62,5% enquanto que para as novilhas não-bioestimuladas a prenhez foi de 25%, não havendo diferenças nas estruturas ovarianas (SOARES et al., 2008).

2.3.2. Nutrição

Foi avaliado efeito do arraçoamento para alcançar diferentes GMD (baixo 0,4 Kg/d; médio 0,6 Kg/d e alto 0,8 Kg/d) em diversas raças de bovinos de corte (FERREL et al. 1982). Tanto raça quanto GMD pós desmame foram significativos em alterar a idade e o peso à puberdade. Entre as várias raças utilizadas nos estudos, novilhas com baixo GMD eram mais velhas e com menores pesos à puberdade.

Yelich et al. (1996), submeteram novilhas desmamadas aos nove meses a dietas de alto (1,36 Kg/d) ou baixo ganho (0,23 Kg/d) por 16 semanas e após esse período as novilhas receberam a dieta de alto ganho. As novilhas que receberam a dieta de alto ganho alcançaram a puberdade mais jovem, porém com menor peso, e apresentaram maior pulsatilidade de LH e maiores concentrações de insulina no

sangue. As novilhas que estavam recebendo dieta de baixo ganho apresentavam menores concentrações de IGF-1 e maiores concentrações de GH, e após o início do fornecimento da dieta de alto ganho passaram a ter concentrações circulantes dos hormônios avaliados semelhante às novilhas na dieta de alto ganho. Os autores concluíram que, mesmo após um período de restrição alimentar, o fornecimento de uma dieta que proporcione altas taxas de crescimento pode antecipar a puberdade, porém de forma menos eficaz quanto em novilhas que experimentaram altos ganhos diários desde o desmame.

Gasser et al. (2006a; b; c; d) realizaram uma série de experimentos avaliando o efeito e o momento de fornecimento da dieta. No primeiro estudo (GASSER et al., 2006a), utilizaram animais desmamados precocemente (DP; 73 dias de idade) e avaliaram o fornecimento de uma dieta simulando o ganho de peso a pasto (0,75 Kg/d; DPC) e de uma dieta rica em concentrado (DPR), formulada para atingir um ganho de peso de 1,5 Kg/d. Os animais tratados com a dieta DPR foram arraçoados durante todo o período experimental, enquanto os animais tratados com a dieta DPC, foram arraçoados dos 99 a 286 dias de idade e depois passaram a receber a dieta DPR. Oito das nove novilhas no tratamento DPR tiveram puberdade precoce, enquanto nenhuma das novilhas no tratamento DPC tiveram puberdade antes dos 300 dias de idade (Tabela 1).

Já no segundo estudo da série, Gasser et al. (2006b) as dietas citadas anteriormente e também uma dieta controle em bezerras desmamadas aos 208 dias (DNC). Nas novilhas nos tratamentos DPC e DNC, a taxa de crescimento e a idade a puberdade foram semelhantes (319 dias), porém 100% das novilhas tratadas com a dieta DPR alcançaram puberdade precoce, com média de 252 dias de idade. Os autores concluíram não haver influência do momento do desmame e da composição da dieta (DPC dieta controle; DNC – leite e pasto, seguido pela dieta C) quando novilhas são tratadas para obterem a mesma taxa de crescimento.

O objetivo do terceiro experimento retroalimentação negativa do estradiol, em animais recebendo uma dieta rica (R) ou uma dieta controle (C). Dentro de todos os grupos, os animais foram escolhidos para permanecerem intactos (INT-R; INT-C), ovariectomizados (OVC-R; OVC-C) e ovariectomizados com administração de um implante de estradiol (OVCE-R; OVCE-C). Nos animais ovariectomizados sem o implante de estradiol, houve um rápido aumento na pulsatilidade de LH. Porém, nos animais intactos ou ovariectomizados com implante de estradiol tiveram os mesmos

resultados, e animais recebendo a dieta R, tiveram maior taxa de puberdade precoce e menor idade a puberdade que novilhas recebendo a dieta C (GASSER et al. 2006c).

No quarto experimento da série (GASSER et al., 2006d), além dos tratamentos DPC e DPR foram incluídos dois outros para testar a influência do momento de início da dieta R. As dietas iniciaram aos 126 dias de idade e o experimento foi dividido em duas fases. A Fase 1 foi de 126 até 196 dias de idade e a Fase 2 de 196 até o final do experimento. As novilhas dos tratamentos DPC e DPR receberam as dietas durante as duas fases. O restante dos animais foram divididos para receberem a dieta R na Fase 1 e a dieta C na Fase 2 (DPR-C), e as novilhas no quarto tratamento receberam a dieta C na Fase 1 e a R na Fase 2 (DPC-R). A idade à puberdade nos tratamentos DPR e DPR-C foram semelhantes, porém mais precoce quando comparada à dieta DPC. O tratamento DPC-R teve resultado intermediário (Tabela 1)

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

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

2.3.3. Hormônios

De acordo com Day et al. (1998) o uso de progestinas reduz a quantidade de receptores de estradiol no hipotálamo, o que por sua vez reduz a retroalimentação negativa do estradiol na liberação de GnRH. Isso resulta em um aumento na liberação de LH, sendo este o mecanismo responsável pela indução de puberdade nos tratamentos com progestinas.

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

estudo foram utilizados zero (n = 15), um (n = 16) ou três (n = 16) implantes de norgestomet por 10 dias. As novilhas que receberam implantes de norgestomet tiveram maior indução de puberdade comparada às novilhas controle. Entretanto, a liberação de LH durante o tratamento foi reduzida nas novilhas que receberam três implantes, porém foi maior que o grupo controle 12 h após a remoção dos implantes. Diversos outros estudos relataram efeito positivo do norgestomet na indução de puberdade (GONZALES-PADILLA et al., 1975; GRINGS et al., 1998 e HALL et al., 1997).

O acetato de melengestrol (MGA), que é uma progestina oral, também foi avaliado para induzir puberdade. Imwalle et al. (1998) utilizaram MGA por 8 dias para indução de puberdade e aumento nos pulsos de LH durante o tratamento. Dez dias após o fim do tratamento todas as novilhas tornaram-se púberes (n = 8), enquanto que no grupo controle apenas quatro novilhas entraram em puberdade (n = 9). Da mesma forma, Patterson et al. (1990), detectaram que o tratamento de novilhas *Bos taurus* e *Bos indicus* x *Bos taurus*, pré-púberes com MGA por sete dias é capaz de induzir puberdade nesses animais.

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

Baruselli et al (2009) sumarizaram alguns estudos avaliando o efeito do tratamento com dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 por 10 dias para induzir puberdade. A adição de BE no início ou cipionato de estradiol (ECP) no final do tratamento com P4 não melhorou a indução em comparação as novilhas tratadas apenas com P4. Contudo, em outro estudo, a adição de ECP ou BE ao final do protocolo melhorou as taxas de indução, relativo às novilhas tratadas apenas com P4. Pfifer et al. (2009) associaram o tratamento com P4 à aplicação de prostaglandina (PGF2 α) no momento da retirada dos dispositivos. Novilhas que receberam PGF2 α no momento da retirada do dispositivo tiveram maior taxa de ovulação (73%; 8/11) comparadas às novilhas no grupo controle (7%; 1/14) sendo que novilhas tratadas apenas com dispositivo de P4 foram intermediárias (31%; 4/13), segundo os autores o

mecanismo responsável pelos resultados é um aumento da sensibilidade da hipófise ao GnRH em decorrência da aplicação de PGF2 α .

Recentemente Claro Junior et al. (2009) avaliaram o efeito de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (CIDR) novo ou previamente utilizado por 27 dias (4^o uso) durante 12 dias, na indução de estro e prenhez em novilhas pré-púberes em 45 dias. Novilhas tratadas com CIDR tiveram maior taxa de detecção de estro comparado às novilhas Controle, sendo que o diâmetro folicular, o escore uterino no momento da retirada do CIDR e concepção foram maiores para as novilhas tratadas com CIDR de 4^o uso comparadas as novilhas tratadas com CIDR novo. Os autores atribuíram o resultado a menor concentração de P4 no CIDR de 4^o uso, o que pode ter estimulado a liberação de LH levando a um maior crescimento folicular, maiores concentrações de estradiol e melhor escore uterino.

2.4. Luteólise Prematura no Primeiro Ciclo Estral Pós-Puberdade

Do ponto de vista prático, a ocorrência da puberdade na fêmea é o auge de uma série de eventos, que resultam na primeira ovulação. Após a puberdade geralmente ocorre ciclos estrais de curta duração (BERARDINELLI et al., 1979; BERGFELD et al., 1994; EVANS et al., 1994; NOGUEIRA, 2004), seguido de ciclos estrais regulares (EVANS et al., 1994; NOGUEIRA, 2004).

Considera-se luteólise prematura quando essa ocorre antes do 16^o dia do ciclo estral, que é o momento em que o endométrio inicia a secreção pulsátil de PGF2 α em um ciclo estral de duração normal. Nesse caso, o intervalo interestros é mais curto que a média observada (SÁ FILHO, 2007). A ocorrência de luteólise prematura é bastante comum em vacas em anestro após ovulações induzidas por desmames, desmames associados a tratamento com GnRH, e em novilhas após a primeira ovulação na puberdade (YAVAS et al., 2000), sendo sempre acompanhado por baixas taxas de concepção, pois o corpo lúteo (CL) regride quando o embrião ainda não é capaz de produzir IFN- τ (sinal liberado pelo embrião para o reconhecimento materno da gestação) suficiente para bloquear a luteólise (MANN et al., 2001) ocasionando morte embrionária precoce. A luteólise prematura ocorre assim que o CL se torna responsivo à PGF2 α , ou seja, próximo do sexto dia do ciclo estral (HENRICKS et al., 1974).

Recentemente, Sá Filho et al. (2009), avaliaram se o tratamento com P4 e/ou estrógenos poderiam minimizar a ocorrência de ciclos curtos após indução da primeira ovulação pós parto. Os autores concluíram que o tratamento com dispositivo

intravaginal de P4 por no mínimo três dias, foi suficiente para diminuir a ocorrência de luteólise prematura, porém o uso de estrógenos não teve efeito algum.

2.5. Sincronização da ovulação

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

Diversos estudos buscaram alternativas para aumentar a taxa de prenhez e verificar quais são os fatores que comprometem a fertilidade em novilhas Nelore (DIAS et al., 2009; PERES et al., 2009; MARTINS, 2011). A ausência de folículos com um bom diâmetro ao final do protocolo de IATF é um dos principais fatores responsáveis por essa variação de resultados (MARTINS, 2011).

2.5.1. Efeito das concentrações circulantes de P4

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

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

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

Recentemente, Martins (2011) avaliou o uso de CIDR novo ou previamente utilizado por 18 dias durante 7 ou 9 dias em um protocolo de sincronização de cio. Novilhas que receberam o CIDR de 1^o uso apresentaram menor diâmetro folicular já no dia 7, e levaram mais tempo para serem detectadas em estro. O autor sugeriu que aparentemente o momento do desvio folicular ocorreu um pouco antes do dia 7 e a maior concentração de P4 no CIDR novo foi suficiente para inibir o crescimento folicular.

2.5.2. Influência da duração do proestro na fertilidade

Nos protocolos de IATF/IA, outro fator que parece estar intimamente ligado à fertilidade é o período entre a aplicação de prostaglandina e a IA, também conhecido com proestro (BRIDGES et al., 2010). Durante o proestro, ocorre a maturação final do folículo e aumento das concentrações de estradiol.

Bridges et al. (2008), observaram que vacas que tiveram menor tempo de proestro, tiveram menores taxa de prenhez. Em outro estudo (BRIDGES et al., 2010), foi desenvolvido um modelo para avaliar o efeito do proestro em vacas com diâmetro folicular constante. Após um período de sincronização, os animais tiveram todos os folículos maiores que 5,0 mm aspirados e foram aleatoriamente distribuídos para receberem uma aplicação de prostaglandina 2,25 ou 1,25 dias antes da indução da ovulação (GnRH; 100 μ g), perfazendo assim dois grupos experimentais: proestro longo (PL; n = 40) e proestro curto (PC; n = 38). O diâmetro folicular não diferiu entre os grupos (PC: 13,0 0,2 vs PL: 12,6 0,2 mm), entretanto os animais no grupo PL apresentaram menor incidência de ciclo estral de curta duração (30% vs. 74%) e maior taxa de concepção nos animais com ciclo estral normal (73% vs. 14,3%).

Martins (2011) avaliou o efeito da duração do proestro em novilhas Nelore púberes. As novilhas foram sincronizadas com dispositivo intravaginal de P4 e aplicação de 2 mg de BE no dia 0, 12,5 mg de PGF2 α no dia 7, retirada do CIDR e distribuição dos animais para serem inseminados 54 ou 72 horas após, com a

aplicação de 100 µg de GnRH no momento da IA. Adicionalmente um grupo controle com as novilhas recebendo 0,5 mg de ECP no dia 9 e inseminadas 48 horas após foi utilizado. Não houve diferença no diâmetro folicular no momento da IA ou na taxa de concepção entre os grupos. Entretanto, o atraso no momento da inseminação aumentou a quantidade de novilhas expressando cio e taxa de ovulação no grupo inseminado com 72 horas. Porém, o atraso na inseminação resultou em maior quantidade de animais que ovularam antecipadamente (ausência de folículo dominante no momento da IA; > 6,5 mm), podendo ser este um dos fatores responsáveis pela ausência de efeito.

Portanto, existem diversas estratégias que podem ser utilizadas para antecipar à idade a puberdade em novilhas. Como já citado, novilhas Nelore apresentam idade ao primeiro parto elevada, consequência do aparecimento tardio da puberdade. Dada a importância da quantidade de novilhas púberes no início da estação de monta, o objetivo deste trabalho foi desenvolver estratégias associadas ao protocolo com CIDR de 4º uso por 12 dias para indução de puberdade, que pudessem proporcionar maior quantidade de novilhas inseminadas e prenhes no início da estação de monta. Adicionalmente foi testado qual o melhor momento para se iniciar o protocolo de IATF após a indução, que pudesse minimizar os efeitos negativos citados anteriormente sem a necessidade de um manejo adicional, e que pudesse proporcionar satisfatórias taxa de fertilidade.

As estratégias utilizadas foram dois tratamentos com CIDR de 4º uso por 12 dias consecutivos, adição de eCG e/ou ECP ao final do tratamento com CIDR por 12 dias e utilização de touros para monta natural.

Para avaliar a viabilidade do protocolo de IATF, a estratégia utilizada foi iniciar o protocolo de IATF em três diferentes momentos após a indução da ovulação, 10, 12 e 14 dias.

Esta pesquisa resultou em dois artigos, redigidos de acordo com as normas da Revista Theriogenology.

No capítulo 2 é apresentado o trabalho intitulado **“Estratégias a base de progesterona para induzir ovulação em novilhas Nelore pré-púberes”**.

No capítulo 3 é apresentado o trabalho intitulado **“Intervalo entre indução da ovulação e IATF em novilhas Nelore pré-púberes”**.

3. Referências Bibliográficas

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

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

ANUALPEC 2011. Anuário da Pecuária Brasileira, 2011, Instituto FNP, São Paulo.

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

BERARDINELLI, J. G., DAILEY, R. A., BUTCHER, R. L., INSKEEP, E. K. Source of progesterone prior to puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 49, p. 1276 – 1280, 1979.

BERGFELD, E. G. M., KOJIMA, F. N., CUPP, A. S., WEHRMAN, M. E., PETERS, K. E., GARCIA-WINDER, M., KINDER, J. E. Ovarian follicular development in prepubertal heifers is influenced by level of dietary energy intake. **Biology of Reproduction**, v. 51, p. 1051 – 1057, 1994.

BERGFELD, E. G. M., KOJIMA, F. N., CUPP, A. S., WEHRMAN, M. E., PETERS, K. E., MARISCAL, V., SANCHEZ, T., KINDER, J. E. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17-estradiol in bovine females. **Biology of Reproduction**, v. 54, p. 546 - 553, 1996.

BERGMANN, J. A. G., ZAMBORLINI, L. C., PROCÓPIO, C. S. O., ANDRADE, V. J., VALE FILHO, V. R. Estimativas de parâmetros genéticos do perímetro escrotal e do peso corporal em animais da raça Nelore. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 48, n. 1, p. 69 – 78, 1996.

BRIDGES GA, MUSSARD ML, BURKE CR, DAY ML. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. **Anim Reprod Sci**.v. 117, p. 208-15, 2010.

BRIDGES GA, HELSER LA, GRUM DE, MUSSARD ML, GASSER CL, DAY ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology**.v. 69, p. 843-51, 2008.

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

CARDOSO, D, NOGUEIRA, G P. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas. **Arq. Ciênc. Vet. Zool.** Unipar, Umuarama, v. 10, n. 1, p. 59-67, 2007.

CHENOWETH, P. J. Reproductive management procedures in control of breeding. **Animal Production Australian**, v.15, p.28, 1983.

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

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

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

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

DIAS C. C., WECHSLER F. S., DAY M. L., VASCONCELOS J. L. .M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. **Theriogenology**. V. 72, p. 378-85, 2009.

ELER, J. P., SILVA, J. A., FERRAZ, J. B. S., DIAS, F., OLIVEIRA, H. N., EVANS, J. L., GOLDEN, B. L. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nelore heifers. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 951 – 954, 2002.

EMERICK L. L., DIAS J. C., GONÇALVES P. E. M., MARTINS J. A. M., LEITE T. G., ANDRADE, V. J., VALE FILHO V. R.. Aspectos relevantes sobre a puberdade em fêmeas. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v.33, n.1, p.11-19, 2009

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

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

FORTUNE, J. E., RIVERA, G. M., YANG, M. Y., Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. **Animal Reproduction Science** 82–83, 109–126, 2004.

GALINA, C. S., ARTHUR, G. H. Review of cattle reproduction in the tropics. Part 1. Puberty and age at first calving. **Animal Breeding Abstracts**, v. 57, p. 583 – 590, 1989.

GAMBA M., PRALONG F. P. .Control of GnRH neuronal activity by metabolic factors: the role of leptin and insulin. **Mol Cell Endocrinol** 254–255:133–139, 2006.

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

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

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

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

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

GRINGS, E., EHALL, J. B., BELLOWS, R. A., SHORT, R. E., STAIGMILLER, R. B. Effect of nutritional management, trace mineral supplementation, and norgestomet implant on attainment of puberty in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 2177 – 2181, 1998.

GINTHER, O. J., WILTBANK M. C., FRICKE P. M., GIBBONS J. R., KOT K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v. 55, p. 1187 – 1194, 1996.

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

HENRICKS, D. M., LONG, J. T., HILL, J. R. The various effects of prostaglandin F_{2α} during various stages of estrous cycle of beef heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 41, p. 113 - 120, 1974.

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

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

KURZ S. G., DYER R. M., HU Y., WRIGHT M. D. and DAY M. L. Regulation of Luteinizing Hormone Secretion in Prepubertal Heifers Fed an Energy-Deficient Diet. **Biology of Reproduction** 43, 450-456, 1990.

MANN, G. E., LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175 - 180, 2001.

MAQUIVAR, M., DAY M. L. Estratégias nutricionais e hormonais para induzir a puberdade e seu impacto na fertilidade. In: **XV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de bovinos**, Uberlândia, 2011.

MAQUIVAR, M., DAY M. L. Regulação Hormonal da Puberdade. In: **XIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de bovinos**, Uberlândia, 2009.

MARTIN, L. C., BRINKS, J. S., BOURDON, R.M. et al. Genetic effects on beef heifer puberty and subsequent reproduction. **Journal of Animal Science**, v.70, p.4006 - 4017, 1992.

MARTINS, T. Efeitos das concentrações de progesterona, duração do proestro e diâmetro folicular sobre a taxa de concepção de novilhas Nelore submetidas à inseminação artificial após detecção do estro ou inseminadas em tempo fixo. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

MEIRELLES, S. L. Efeitos genéticos e ambientais sobre características de precocidade sexual em bovinos Nelore. 2004. 74f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, 2004.

NOGUEIRA, G. P. Puberty in South América *Bos indicus* (Zebu) cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 82 – 83, p. 361 – 372, 2004.

OLIVEIRA, C. M. G., FILHO, B. D. O., GAMBARINI, M. L., VIU, M. A. O., LOPES, D. T., SOUSA, A. P. F. Effects of biostimulation and nutritional supplementation on pubertal age and pregnancy rates of Nelore heifers (*Bos indicus*) in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, 2007.

PATTERSON, D. J., CORAH, L. R., BRETHOUR, J. R. Response of prepubertal *Bos taurus* and *Bos indicus* X *Bos taurus* heifers to melengestrol acetate with or without gonadotropin-releasing hormone. **Theriogenology**, v. 33, p. 661 – 668, 1990.

PATTERSON, D. J., CORAH, L. R., BRETHOUR, J. R., SPIRE, M. F., HIGGINS, J. J., KIRACOFÉ, G. H., STEVENSON, J. S., SIMMS, D. D. Evaluation of reproductive traits in *Bos Taurus* and *Bos indicus* crossbred heifers: effects of postweaning energy manipulation. **Journal of Animal Science.**, v. 69, p. 2349 – 2361, 1991.

PATTERSON, D. J., PERRY, R. C., KIRACOFÉ, G. H., BELLOWS, R. A., STAIGMILLER, R. B., CORAH, L. R. Management considerations in heifer development and puberty. **Journal of Animal Science.**, v. 70, p. 4018 – 4035, 1992.

PERES R. F. G., CLARO JR I., SÁ FILHO O. G. , NOGUEIRA G. P., VASCONCELOS J. L. M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology.** v. 72, p. 681-9, 2009.

PERRY, R. C., CORAH, L. R., COCHRAN, R. C., BRETHOUR, J. R., OLSON, K. C., HIGGINS, J. J. Effect of hay quality, breed and ovarian development on onset of puberty and reproductive performance of beef heifers. **Journal Prod. Agric.**, v. 4, n. 1, p. 13 – 18, 1991.

PFEIFER, L. F., L. G. SIQUEIRA, R. J. MAPLETOFT, J. P. KASTELIC, G. P. ADAMS, M. G. COLAZO & J. SINGH Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. **Theriogenology**, v. 72, p. 1054-64, 2009.

QUADROS, S. A. F., LOBATO, J. F. P. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 679 – 683, 2004.

RASBY, R. J., DAY, M. L., JOHNSON, S. K., KINDER, J. E., LYNCH, J. M., SHORT, R. E., WETTEMANN, R. P., HAFS, H. D. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. **Theriogenology**, v. 50, p. 55 - 63, 1998.

RESTLE, J., POLLI, V. A., DE SENNA, D. B. Efeito de grupo genético e heterose sobre a idade e peso à puberdade e sobre o desempenho reprodutivo de novilhas de corte. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, n. 4, v. 34, p. 701 – 707, 1999.

ROBERTS, A. J., GEARY, T. W., GRINGS, E. E., WATERMAN, R. C. AND MACNEIL, M. D. Reproductive performance of heifers offered ad libitum or restricted access to

feed for a one hundred forty-day period after weaning. **J Anim Sci** 87:3043-3052, 2009.

ROCHA, M. G., LOBATO, J. F. P. Avaliação do desempenho reprodutivo de novilhas de corte primíparas aos dois anos de idade. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 3, p. 1388 – 1395, 2002.

RODRIGUES, H. D.; KINDER, J. E.; FITZPATRICK, L. A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. **Biology of Reproduction, Madison**, v. 66, p. 603-609, 2002.

SÁ FILHO, O. G. Efeito de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura do corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto. 2007. 137 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

SÁ FILHO O.G., THATCHER W. W., VASCONCELOS J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Anim Reprod Sci**;v. 112, p. 95-106, 2009.

SÁ FILHO O. G., MENEGHETTI M., PERES R. F. G., LAMB G C., VASCONCELOS J. L. M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for Bos indicus cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**. v. 72, p. 210-8, 2009.

SCOT CONSULTORIA. TAXA DE DESFRUTE. 2012. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/23681/taxa-de-desfrute.htm>> Acesso em 01/07/2012.

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

SOUZA, E. M., MILAGRES, J. C., SILVA, M. A., REGAZZI, A. J., CASTRO, A. G. C. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, p. 926 – 935, 1995.

TRAN, T. Q., WARNICK, A. C., HAMMOND, M. E., KOGER, M. Reproduction in Brahman cows calving for the first time at two or three years of age. **Theriogenology**, v. 29, p. 751 – 756, 1988.

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

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

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

CAPÍTULO 2

**Estratégias a base de progesterona para induzir
ovulação em novilhas Nelore pré-púberes**

ESTRATÉGIAS A BASE DE PROGESTERONA PARA INDUZIR OVULAÇÃO EM NOVILHAS NELORE PRÉ-PÚBERES

RESUMO

Quatro experimentos foram realizados para avaliar estratégias hormonais para induzir ovulação em novilhas Nelore. No experimento 1, (n = 1039) as novilhas receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 previamente utilizado por 27 dias (Quarto uso; CIDR-4) no Dia -12 ou nenhum tratamento (CIDR-0). O dispositivo foi removido no Dia 0 no tratamento CIDR-4 e a detecção de estro e IA foram realizadas nos Dias 1 a 7. No Dia 8, as novilhas não detectadas em estro foram avaliadas para determinar a presença do CL e receberam o mesmo tratamento novamente, seguido por detecção de estro e IA nos Dias 21 a 27. Todas as novilhas nos Experimentos 2 (n = 896), 3 (n = 839) e 4 (n = 948) receberam o tratamento CIDR-4 no Dia -12. No Experimento 2, as novilhas foram aleatoriamente distribuídas em um grupo Controle (sem tratamento adicional) ou para receberem 200 UI im de gonadotrofina coriônica equina (eCG) no Dia 0. No Experimento 3, as novilhas receberam os mesmos tratamentos descritos no Experimento 2 ou um tratamento que incluiu 200 UI im de eCG mais 0,5mg im de cipionato de estradiol (eCG+ECP) no Dia 0. No Experimento 4, as novilhas receberam os mesmos tratamentos descrito no Experimento 3 ou apenas 0,5mg im de ECP (ECP) no Dia 0. Nos Experimentos 2 e 3, detecção de estro e IA foram realizadas nos Dias 1 a 7 e no Dia 8 as novilhas não detectadas em estro foram avaliadas para determinar presença de CL. No Experimento 4, as novilhas foram avaliadas para determinar a presença de CL entre os Dias 10 e 14. No Experimento 1, as novilhas tratadas com CIDR-4 tiveram maiores taxas de detecção de estro, indução de ovulação e prenhez comparadas ao Grupo CIDR-0. No Experimento 2, as novilhas tratadas com eCG tiveram maiores taxas de de detecção de estro, indução de ovulação e prenhez em 7 d comparadas as novilhas no tratamento Controle. No Experimento 3, novilhas tratadas com eCG+ECP tiveram maiores taxas de detecção de estro, indução de ovulação e prenhez comparas as novilhas nos tratamentos eCG e Controle. No Experimento 4, indução de ovulação foi maior para novilhas tratadas com eCG e eCG+ECP comparadas ao tratamento Controle, mas não foram diferentes do tratamento ECP. Em conclusão, a utilização de um CIDR de quarto uso por 12 d e adição de eCG e/ou ECP na remoção do CIDR induziu ovulação e aumentou a taxa de prenhez em novilhas Nelore pré-púberes.

Palavras-chaves: Puberdade, protocolo de indução da ovulação, progesterona.

PROGESTERONE-BASED STRATEGIES TO INDUCE OVULATION IN PREPUBERTAL NELLORE HEIFERS

ABSTRACT

Four experiments were conducted to evaluate hormonal strategies to induce ovulation in Nellore heifers. In Experiment 1, (n = 1039) heifers received a CIDR of fourth use (CIDR-4) on Day -12 or no CIDR (CIDR-0). The CIDR was removed on Day 0 in the CIDR-4 treatment, and estrus detection and AI were performed from Days 1 to 7. On Day 8, heifers not detected in estrus were evaluated for CL presence and received the same treatment again, followed by estrus detection and AI from Days 21 to 27. All heifers in Experiments 2 (n = 896), 3 (n = 839), and 4 (n = 948) received the CIDR-4 treatment on Day -12. In Experiment 2, heifers were randomly assigned to a Control group (no additional treatment) or to receive equine chorionic gonadotropin (eCG; 200 IU eCG im) on Day 0. In Experiment 3, heifers received the same treatments as in Experiment 2, or a treatment that included eCG and estradiol cypionate (eCG+ECP; 200 IU im of eCG plus 0.5 mg estradiol cypionate im) on Day 0. In Experiment 4, heifers received the treatments described in Experiment 3 or only ECP (ECP; 0.5 mg ECP) on Day 0. In Experiments 2 and 3, estrus detection and AI was performed from Days 1 to 7 and on Day 8 heifers not detected in estrus were evaluated for CL presence. In Experiment 4, heifers were evaluated for presence of a CL between Days 10 and 14. In Experiment 1 heifers treated with CIDR-4 had greater estrus detection, ovulation induction and pregnancy rates than in the CIDR-0 group. In Experiment 2, heifers treated with eCG had greater estrus detection, ovulation induction and pregnancy rates in 7 d than heifers in the Control group. In Experiment 3, heifers treated with eCG + ECP had greater estrus detection, ovulation induction and pregnancy rates than the Control and eCG treatments. In Experiment 4, ovulation induction was greater for heifers treated with eCG and eCG + ECP relative to Controls, but did not differ from the ECP treatment. In conclusion, the use of a CIDR of fourth use for 12 d and the addition of eCG and/or ECP at CIDR removal efficiently induced ovulation and increased pregnancy rates in prepubertal Nellore heifers.

Keywords: Puberty, ovulation induction protocol, progesterone.

1. Introdução

A presença de uma alta porcentagem de novilhas pré-púberes no início da estação de monta diminui a eficiência produtiva de novilhas de corte [1,2]. No Brasil, a idade ao primeiro parto é de aproximadamente de 40 meses [3], indicando que normalmente novilhas Nelore atingem a puberdade entre 2 e 3 anos de idade. De acordo com Eler et al. [4], reduzindo a idade a puberdade em novilhas de corte de 30 para 20 meses aumentaria o retorno econômico da atividade.

De acordo com Day et al. [5], novilhas têm baixas concentrações plasmáticas de LH devido a uma alta sensibilidade do hipotálamo à retroalimentação negativa do estradiol, o que diminui a secreção de GnRH. Embora novilhas pré-púberes apresentem ondas foliculares com períodos transitórios de dominância, este folículo dominante falhar a ovular devido à ausência de um pico pré-ovulatório de LH [6]. Próximo à puberdade, há uma diminuição na quantidade de receptores de estradiol no hipotálamo, o que é associado a um declínio na sensibilidade negativa a este hormônio, resultando em aumentada liberação de GnRH e então secreção de LH a níveis que eventualmente resultarão em ovulação [3, 7, 8].

Vários estudos relataram diferentes estratégias para induzir puberdade em novilhas: manejos nutricionais [9-12], bioestimulação [13] e uso de hormônios exógenos [2, 14-18]. Day et al. [8] sugerem que o uso de progestágenos diminui os receptores de estrógeno no hipotálamo, o que por sua vez diminui o efeito da retroalimentação negativa do estradiol na liberação de GnRH. Anderson et al. [14] demonstraram que o norgestomet foi eficiente em induzir puberdade e melhorar o peso uterino. Imwalle et al. [15], usando uma progestina oral (acetato de melengestrol), observaram que 100% das novilhas tratadas atingiram a puberdade e tiveram um maior diâmetro folicular quando comparadas as novilhas não tratadas. Este mesmo efeito foi observado em novilhas *Bos indicus* que receberam um CIDR de quarto uso por 12 dias [2]. Alguns autores sugerem que o uso de um dispositivo intravaginal de P4, em associação à administração exógena de estrógenos [16, 19] ou prostaglandina [18] melhorou a indução da ovulação. Recentemente, Claro Junior et al. [2] compararam o uso de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 novo ou previamente utilizado durante 12 dias para induzir estro em novilhas Nelore pré-púberes. Taxas de concepção e prenhez aos 45 dias foram maiores para as novilhas recebendo o dispositivo utilizado previamente. Os autores especulam que o dispositivo utilizado foi mais eficiente devido a menores concentrações circulantes de P4,

resultando em maior secreção de LH e crescimento folicular durante o tratamento com P4 [20].

A hipótese deste estudo foi que a aplicação de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 utilizado previamente por 27 dias e a adição de eCG e/ou ECP ao final do tratamento melhora as taxas de indução de ovulação e prenhez em novilhas Nelore pré-púberes.

2. Material e Métodos

Novilhas pré-púberes foram avaliadas duas vezes por ultrassonografia (Mindray - 2200VET DP; Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics CO., Shenzhen, China), com 7 a 10 dias de intervalo. Apenas novilhas que não apresentaram corpo lúteo (CL) em ambas as avaliações foram utilizadas nestes experimentos. No Dia -12, um dispositivo intravaginal que originalmente continha 1,9 g de P4 (CIDR[®]; Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e que foram previamente utilizados por três vezes de 9 dias cada (4^o uso; CIDR-4) foi inserido. Antes dos dispositivos de P4 serem inseridos, foram lavados como descrito por Meneghetti et al., [21]. No Dia -12, escore uterino (EU; [2]), escore de condição corporal (ECC; [22]) e peso corporal (PC) foram avaliados. Ultrassonografia ovariana foi realizada no Dia 8 nos Experimentos 1, 2 e 3 e nos Dias 10 a 14 no Experimento 4 para avaliar a presença de CL nas novilhas não detectadas em estro (Figura 1).

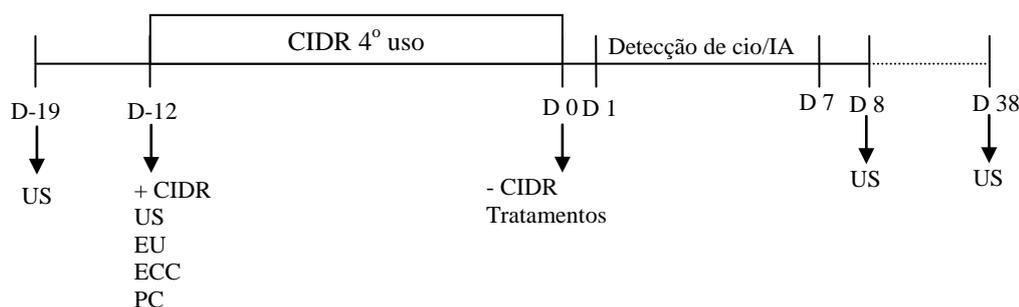


Figura. 1. Diagrama esquemático do modelo experimental básico. Dias -19 e -12, avaliações ultrassonográficas para determinar a ausência de corpo lúteo. Entre Dias -12 e 0 novilhas Nelore pré-púberes receberam um CIDR de 4^o uso. Dia 0, remoção do CIDR e as novilhas eram aleatoriamente distribuídas para receberem os tratamentos em cada experimento. Detecção de estro entre Dias 1 e 8. Experimento 1: Novilhas aleatoriamente distribuídas para receberem, nenhum tratamento adicional (CIDR-0; n = 177) ou CIDR-4 (n = 862) entre os Dias -12 e 0. Nos Experimentos 2, 3 e 4, novilhas foram aleatoriamente distribuídas aos tratamentos no Dia 0. Experimento 2: Controle (n = 450) e eCG (n = 446); Experimento 3: Controle (n = 168), eCG (n = 335) e eCG+ECP (n = 336); Experimento 4: Controle (n = 235), eCG (n = 234), eCG+ECP (n = 234) e ECP (n = 245).

US: avaliação ultrassonográfica; **EU:** Avaliação do escore uterino por palpação retal (**EU-1:** Diâmetro do corno uterino <20 mm e tônus uterino fraco; **EU-2:** Diâmetro do corno uterino >20 mm e fraco tônus uterino; **EU-3:** Diâmetro do corno uterino >20 mm e tônus uterino forte); **PC:** peso corporal; **ECC:** escore de condição corporal, em uma escala de 1 (emaciada) a 5 (obeso).

2.1. Experimento 1

Um total de 1039 novilhas Nelore pré-púberes que tinham $24,7 \pm 0,02$ meses de idade, ECC de $3,14 \pm 0,01$ (1 = emaciada e 5 = obesa) e pesaram $294 \pm 0,8$ Kg no Dia -12 foram utilizadas. As novilhas estavam em duas fazendas no estado do Acre, Brasil (Fazenda 1, n = 667; Fazenda 2, n = 372). As novilhas foram mantidas em pastos de *Brachiaria brizantha* e tiveram acesso *ad libitum* à água e suplemento mineral. O experimento foi conduzido entre Junho e Agosto de 2009.

No Dia -12, as novilhas foram aleatoriamente, porém desproporcionalmente distribuídas em cada fazenda para receberem nenhum tratamento (CIDR-0; n = 177) ou um CIDR de 4º uso (CIDR-4; n = 862). No Dia 0, o dispositivo foi removido e EU foi avaliado. Entre os Dias 1 e 7, detecção de estro foi realizada por 1 hora, duas vezes ao dia (0700 e 1600 h).

As novilhas detectadas em estro foram inseminadas 10 a 12 horas após, com sêmen comercial (dois touros) e inseminadores (n = 6) que foram aleatoriamente distribuídos aos tratamentos. Novilhas com ou sem CL no Dia 8 receberam o mesmo tratamento novamente (CIDR-0; n = 158 ou CIDR-4; n = 719). No Dia 20, o dispositivo foi removido e dos Dias 21 a 27, detecção de estro e IA foram realizadas conforme descrito anteriormente. Diagnóstico ultrassonográfico de prenhez foi realizado no Dia 38 nas novilhas inseminadas entre os Dias 1 e 7 e no Dia 58 para as novilhas inseminadas entre os Dias 21 e 27.

2.2. Experimento 2

Um total de 896 novilhas Nelore pré-púberes que tinham $23,4 \pm 0,04$ meses de idade e ECC de $2,9 \pm 0,01$ no Dia -12 (inserção do dispositivo intravaginal de P4) foram utilizadas. As novilhas estavam localizadas em em duas fazenda no estado do Pará, Brasil (Fazenda 1, n = 315; Fazenda 2, n = 581) e mantidas em pastos de *Brachiaria brizantha* e acesso *ad libitum* à água e suplemento mineral. O experimento foi conduzido entre Novembro de 2009 e Janeiro de 2010.

Todas as novilhas receberam o tratamento CIDR-4 como descrito no Experimento 1. No Dia 0 (remoção do CIDR), as novilhas foram aleatoriamente distribuídas para receberem nenhum tratamento adicional (Controle; n = 450) ou 200 UI im de eCG (eCG; n = 446; 1 mL Folligon®, MSD Saúde Animal, São Paulo, SP

Brasil). Detecção de estro e IA, como descrito no Experimento 1, foram realizadas entre os Dias 1 e 7. Entre os Dias 17 e 28, detecção de estro e IA foram realizadas para detectar retorno ao estro nas novilhas que foram inseminadas entre os Dias 1 e 7 e novilhas detectadas em estro foram inseminadas como descrito previamente. Novilhas detectadas em estro foram inseminadas com sêmen comercial (cinco touros) e inseminadores (n = 11) que foram aleatoriamente distribuídos aos tratamentos. Prenhez foi diagnosticada por ultrassonografia transretal 30 dias após o termino do primeiro e segundo períodos de IA (Dias 38 e 58).

2.3. Experimento 3

Um total de 839 novilhas Nelore pré-púberes que tinham $25,2 \pm 0,01$ meses, ECC de $2,9 \pm 0,01$ e pesaram $306 \pm 0,9$ Kg no Dia -12 (inserção do dispositivo intravaginal de P4) foram utilizadas. As novilhas foram mantidas em uma fazenda no estado do Mato Grosso, Brasil em pasto de *Brachiaria brizantha* com acesso *ad libitum* à água e suplemento mineral. O experimento foi realizado entre Fevereiro e Abril de 2010.

Todas as novilhas receberam o tratamento CIDR-4 como descrito no Experimento 1. No Dia 0, as novilhas foram desproporcionalmente, porém aleatoriamente distribuídas para receberem os tratamentos Controle (n = 168) ou eCG (n = 335) descritos previamente ou um tratamento que incluiu 200 UI im de eCG mais 0,5 mg im de cipionato de estradiol (0,25 mL de ECP®, Pfizer Saúde Animal; eCG+ECP; n = 336) no Dia 0. Nos Dias 1 a 7, aproximadamente 50% das novilhas em cada tratamento foram expostas a touros maduros e férteis (Grupo Touro; n = 438; relação touro:novilha, 1:15). Detecção de estro e IA foram realizadas nas novilhas remanescentes (Grupo IA; n = 401) do Dia 1 ao 7 como descrito previamente e novilhas detectadas em estro foram inseminadas com sêmen comercial (seis touros) e inseminadores (n = 4) que foram aleatoriamente distribuídos aos tratamentos. No Dia 38, diagnóstico ultrassonográfico de prenhez foi realizado em todas as novilhas.

2.4. Experimento 4

Novilhas Nelore pré-púberes (n = 948) que tinham $24,8 \pm 0,13$ meses de idade, ECC de $3,02 \pm 0,01$ e pesaram $327,7 \pm 1,11$ Kg no Dia -12 (inserção do dispositivo intravaginal de P4) foram utilizadas. As novilhas estavam localizadas em duas

fazendas localizadas no estado de Mato Grosso, Brasil (Fazenda 1, n = 397; Fazenda 2, n = 551) e mantidas em pastos de *Brachiaria brizantha* e acesso *ad libitum* à água e suplemento mineral. O experimento foi conduzido entre Novembro de 2010 e Abril de 2011.

Todas as novilhas receberam o tratamento CIDR-4 como descrito no Experimento 1. As novilhas foram aleatoriamente distribuídas para receberem os tratamentos Controle (n = 235), eCG (n = 234) ou eCG+ECP (n=234) descritos previamente ou 0,5 mg im de ECP (ECP; n = 245) no Dia 0. Detecção de estro e IA não foram realizadas neste experimento. A indução de ovulação foi determinada por avaliação ultrassonográfica dos ovários entre os Dias 10 a 14 para determina a presença ou ausência de CL.

2.5. *Análise Estatística*

Todos os experimentos foram analisados como um delineamento completamente randomizado. Comparações iniciais foram realizadas, utilizando PROC ANOVA do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA) para determinar homogeneidade das novilhas por idade, ECC, PC e EU no Dia -12.

Taxa de detecção de cio foi calculada como o número de novilhas detectadas em estro divididas pelo número de novilhas tratadas. Taxa de ovulação nos Experimentos 1, 2 e 3 foram calculadas como a soma do número de novilhas que foram detectadas em estro e novilhas com CL no Dia 8 (novilhas em estro não foram avaliadas no Dia 8) divididas pelo número total de novilhas tratadas. No Experimento 4, a taxa de ovulação foi calculada como o número de novilhas com presença de CL nos Dias 10 a 14 divididas por todas as novilhas tratadas (detecção de estro não foi realizada neste experimento). A taxa de concepção foi calculada como o número de novilhas prenhes divididas pelo numero de novilhas que foram inseminadas e a taxa de prenhez foi calculada como o numero de novilhas prenhes divididas pelo numero total de novilhas tratadas.

Variáveis binomiais dependentes foram analisadas utilizando o PROC GLIMMIX do SAS. Fazenda e pasto foram incluídos nos modelos iniciais quando apropriado, porém não foram fontes significantes de variação e então foram removidas nas análises subsequentes. Para taxa de detecção de estro e indução da ovulação, os modelos iniciais incluíram os efeitos de tratamento, idade, ECC (covariável) e PC (categorizado como: Pesadas, ≥ 300 ou Leves < 300 Kg de PC) e interações

apropriadas. Para análise das taxas de concepção e prenhez, tratamento, PC, ECC, inseminador e touro foram utilizados nos modelos iniciais. Para chegar aos modelos finais de regressão, variáveis independentes foram removidas por “backward” eliminação (de acordo com critério de Wald) quando $P > 0,2$. Para todos os experimentos, diferenças foram consideradas significantes quando $P \leq 0,05$, enquanto tendências foram consideradas quando $0,05 < P \leq 0,1$.

3. Resultados

3.1. Experimento 1

O tratamento CIDR-4 aumentou ($P < 0,05$) o escore uterino ($1,30 \pm 0,02$ para $2,58 \pm 0,02$) em comparação ao tratamento CIDR-0 ($1,33 \pm 0,04$ para $1,46 \pm 0,05$). Mais ($P < 0,05$) novilhas no tratamento CIDR-4 foram detectadas em estro entre os Dias 1 e 7 e induzidas a ovularem no Dia 8 do que no tratamento CIDR-0 (Tabela 1). O intervalo da retirada do CIDR ao estro foi menor ($P < 0,05$) no tratamento CIDR-4 ($2,3 \pm 0,14$ dias) do que tratamento CIDR-0 ($4,06 \pm 0,38$ dias), enquanto que taxa de concepção foi maior para CIDR-0 do que CIDR-4 (Tabela 1).

Novilhas pesadas (> 300 Kg; $n = 407$) tiveram maior ($P < 0,05$) detecção de estro e indução de ovulação em 7 dias (23,4 e 50,1%) do que novilhas leves (< 300 Kg, $n = 632$; 10,5 e 26,5%), respectivamente, entretanto a taxa de concepção (46,9%) não foi diferente.

As novilhas não detectadas em estro após o primeiro tratamento receberam o mesmo tratamento iniciando no Dia 8. Taxa de detecção de estro entre os Dias 21 a 27 foi maior ($P < 0,05$) para o tratamento CIDR-4 (41,0%; 293/719) do que CIDR-0 (10,8%; 17/158). Tratamento não afetou a taxa de concepção entre os Dias 21 e 27 (CIDR-0, 58,8%, 10/17; CIDR-4, 47,4%; 139/293). Novilhas que apresentavam CL no Dia 8 tiveram maiores ($P < 0,05$) taxa de detecção de estro (63,9%; 133/208) e concepção (54,9%; 73/133) comparadas às novilhas sem presença de CL no Dia 8 (26,5%, 177/669 e 42,9%, 76/177, respectivamente).

Combinando os dados dos dois períodos de sincronização neste experimento verificou-se maior ($P < 0,05$) taxa de prenhez com 14 dias de detecção de estro no tratamento CIDR-4 (23,1%; 199/862) do que CIDR-0 (14,1%; 25/177) e novilhas pesadas (> 300 Kg; $n = 407$) tiveram maior ($P < 0,05$) taxa de prenhez (29,9%) em 14

dias de detecção de estro do que novilhas leves (< 300 Kg; n = 632; 16,6%), respectivamente.

3.2. *Experimento 2*

O tratamento com 200 UI de eCG na remoção do CIDR aumentou ($P < 0,05$) taxa de detecção de estro do Dia 1 ao 7 e indução de ovulação (Tabela 1) e tenderam ($P = 0,09$) a reduzir o intervalo entre a retirada do CIDR e o estro ($2,06 \pm 0,10$ vs $2,32 \pm 0,13$ dias para os tratamentos eCG e Controle, respectivamente). O tratamento eCG e Controle não diferiram quanto a taxa de concepção (Tabela 1) ou prenhez (15,5%; 69/446 vs 12%; 54/450, respectivamente).

O tratamento com 200 UI de eCG na remoção do CIDR não afetou a percentagem de novilhas que retornaram ao estro ou taxa de concepção para as novilhas inseminadas no estro de retorno (Controle 62,9 e 54,6% vs eCG 59,5 e 62,0%, respectivamente). Entretanto, taxa de prenhez aos 28 dias foi maior ($P < 0,05$) para as novilhas tratadas com eCG (22,4%) do que para as novilhas Controle (17,3%).

3.3. *Experimento 3*

No Grupo IA, o tratamento eCG+ECP aumentou ($P < 0,05$) a taxa de detecção de estro e indução de ovulação (Tabela 1) comparadas as novilhas que receberam apenas eCG, sendo estes dois tratamentos maiores ($P < 0,05$) que o Controle. A taxa de concepção não diferiu entre tratamentos (Tabela 1). Entretanto, a taxa de prenhez em 7 dias tendeu ($P = 0,09$) a ser maior no tratamento eCG+ECP do que no tratamento eCG ou Controle (16,7% para eCG+ECP; 10,6% para eCG e 8,9% para Controle). Independentemente do tratamento, novilhas pesadas tiveram maior ($P < 0,05$) detecção de estro e indução de ovulação do que novilhas leves (49,4 e 80,8 vs 29,1 e 68,0%, respectivamente). Além disso, novilhas pesadas tenderam ($P = 0,09$) a ter maior taxa de concepção e teve maior ($P < 0,05$) taxa de prenhez do que novilhas leves (38,6 e 17,0 vs 27,3 e 7,0%, respectivamente).

No Grupo Touro, a taxa de prenhez entre os Dias 1 e 7 tendeu ($P = 0,09$) a ser maior para eCG+ECP (17,6%) do que para Controle (9,4%), entretanto o tratamento eCG (13,2%) não diferiu dos outros dois tratamentos. Novilhas pesadas tiveram maior ($P < 0,05$) taxa de prenhez comparadas as novilhas leves (17,2 vs 10,3%, respectivamente).

Quando os dados foram analisados combinados para os Grupos IA e Touro, os tratamentos e PC afetaram ($P < 0,05$) a taxa de prenhez em 7 dias. Novilhas tratadas com eCG+ECP (17,1%) tiveram maior taxa de prenhez em 7 dias do que novilhas tratadas com eCG (11,9%) ou Controle (9,2%) e novilhas pesadas tiveram maior taxa de prenhez em 7 dias (17,1%) do que novilhas leves (8,7%).

3.4. Experimento 4

Os tratamentos eCG e eCG+ECP resultaram em maior ($P < 0,05$) indução da ovulação do que o tratamento Controle, enquanto que o tratamento ECP foi intermediário, não sendo diferente dos outros tratamentos (Tabela 1). Novilhas pesadas tiveram maior ($P < 0,05$) indução de ovulação (85,4%; 377/442) do que novilhas leves (78,1%; 395/506).

Tabela 1 Resumo dos resultados para estro, indução da ovulação e taxa de concepção em todos os experimentos.

	Estro em sete dias	Indução da Ovulação	Concepção a IA
Experimento 1			
CIDR-0	10,7% ^a (19/177)	18,6% ^a (33/177)	79,0% ^a (15/19)
CIDR-4	16,6% ^b (143/862)	39,1% ^b (337/862)	42,0% ^b (60/143)
Experimento 2			
Controle	27,6% ^a (124/450)	53,3% ^a (240/450)	43,6% ^a (54/124)
eCG	34,3% ^b (153/446)	72,0% ^b (321/446)	45,1% ^a (69/153)
Experimento 3			
Controle	21,5% ^a (17/79)	45,5% ^a (36/79)	46,7% ^a (7/17)
eCG	34,4% ^b (55/160)	75,0% ^b (120/160)	34,7% ^a (17/55)
eCG+ECP	56,2% ^c (91/162)	90,1% ^c (146/162)	33,3% ^a (27/91)
Experimento 4			
Controle	-	74,9% ^b (176/235)	-
eCG	-	85,0% ^a (199/234)	-
eCG+ECP	-	85,5% ^a (200/234)	-
ECP	-	80,4% ^{ab} (197/245)	-

4. Discussão

Os presentes experimentos suportam a hipótese que o estro foi induzido após exposição à P4 exógena por 12 dias em novilhas Nelores pré-púberes [2] e indicaram que esta resposta, bem como a indução da primeira ovulação foi incrementada pela

administração de eCG ou eCG mais ECP no término do tratamento com P4. Além disso, aproximadamente 50% das novilhas induzidas a ovularem foram detectadas em estro, com a exceção de quando o ECP foi administrado com eCG no Experimento 3 (62%).

No Experimento 1, 39% das novilhas foram induzidas a ovularem após exposição a P4 por 12 dias. Tem sido reportado que o tratamento com baixas concentrações de P4 aumenta a pulsatilidade do LH durante e após o tratamento em novilhas *Bos taurus* [16], o que favorece o crescimento folicular e resulta em indução de puberdade na maioria das novilhas. Além disso, Day et al. [8] demonstraram que o tratamento com progestágeno diminuiu a quantidade de receptores de estradiol no hipotálamo e foi proposto que a redução na retroalimentação negativa do estradiol na secreção de GnRH, resultando no aumento da secreção de LH, é o mecanismo para a indução de puberdade no tratamento com progestágenos.

Esta resposta pode ser dependente da dose de P4 administradas, uma vez que Anderson et al. [14] relataram que a pulsatilidade de LH foi aumentada durante e após a exposição a baixas concentrações de progestina, enquanto que este aumento foi apenas observado após a retirada quando se utilizou uma maior dose de progestina. Concordando, Claro Junior et al [2] relataram que novilhas Nelore pré-púberes que receberam um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 que foi previamente utilizado por 27 dias tiveram maior escore uterino, diâmetro folicular e taxa de concepção do que quando um CIDR novo foi utilizado. Uma vez que novilhas que receberam o dispositivo usado tiveram menores concentrações circulantes de P4 ($1,20 \pm 0,11$ ng/mL para 4º uso vs $2,31 \pm 0,11$ ng/mL para 1º uso) possivelmente tiveram maiores concentrações de LH durante o tratamento [14], suportando a hipótese que ação do tratamento com P4 aumentando a secreção de LH é o fator chave para a indução de puberdade com P4.

Após a remoção do CIDR, o pico de estro ocorreu entre 2 a 3 dias no presente estudo, corroborando relatos prévios [2,16]. Esta resposta demonstra que novilhas pré-púberes podem ser sincronizadas mesmo sem sincronização prévia da onda folicular. Outro pico de estro entre os dias 19 e 21 foi detectado em novilhas tratadas por 12 dias com P4 [2], sugerindo que quando a ovulação foi induzida desta maneira, a ocorrência de luteólise prematura é baixa [23]. Baseado neste resultado, foi iniciado o segundo período de tratamento com P4 no Experimento 1 no Dia 8, de forma que a retirada do CIDR coincidiria com regressão luteal espontânea. O objetivo prático do segundo tratamento com P4 foi aumentar detecção de estro e o número de novilhas

inseminadas no início da estação de monta, bem como a indução da ovulação nas novilhas que não responderam ao primeiro tratamento. Os achados do presente estudo indicam que o segundo tratamento com P4 aumentou a taxa de detecção de estro comparado ao tratamento Controle, em novilhas com e sem CL no Dia 8. Assim, o segundo tratamento com P4 estimula aquelas novilhas que não responderam a primeira indução a se tornarem púberes (ex. novilhas sem CL no início do segundo tratamento) e sincroniza o estro nas novilhas em que a ovulação havia sido induzida previamente (ex. novilhas com CL no início do segundo tratamento).

No Experimento 1, um número pequeno de novilhas no tratamento CIDR-0 foram detectadas em estro e inseminadas comparadas ao CIDR-4, entretanto, a taxa concepção foi maior para o tratamento CIDR-0 do que CIDR-4 (Tabela 1) diferente do observado por estudos prévios [2]. É sabido que períodos estendidos de exposição a P4 exógenas resultaram no desenvolvimento de folículos persistentes que são relacionados à fertilidade reduzida [24]. Entretanto em estudos com vacas de corte *Bos indicus* [25] e *Bos taurus* [26] em anestro, o tratamento com acetato de melengestrol não causou folículos persistentes.

No Experimento 1, a ovulação foi induzida em 39,1% das novilhas no tratamento com P4, porém, apenas 42% destas novilhas foram detectadas em estro. Sartori & Barros [27] relataram a ocorrência de ovulação silenciosa, estro com duração curta e uma alta incidência de exibição noturna de estro em animais zebuínos. Com estas características de comportamento do estro, é possível que alguma proporção da diferença entre ovulação e estro foi devido à falha para detectar o estro. Contudo, em um recente estudo, Reames et al. [28] avaliaram a relação entre a administração de 17β -estradiol e a ocorrência de ambos, estro e pico de LH em vacas ovariectomizadas. Os autores sugerem que o centro responsável pela ocorrência de comportamento estral possui uma sensibilidade ao 17β -estradiol diferente do centro responsável pelo pico de LH. Quando baixas doses de 17β -estradiol foram administradas, algumas vacas não exibiram estro, mas exibiram um pico de LH. A hipótese é que algumas novilhas tiveram concentrações de estradiol suficiente para induzir o pico de LH e ovulação, porém inadequadas concentrações para induzir comportamento estral. Baseados nesta hipótese foram desenvolvidos os Experimentos 2, 3 e 4 com o objetivo de avaliar estratégias hormonais adicionais para melhorar a taxa de detecção de estro e indução de ovulação alcançadas com o tratamento com CIDR apenas. No Experimento 3 foi também utilizado monta natural com touros maduros para testar esta hipótese.

A comparação das taxas de prenhez entre IA e monta natural no Experimento 3 indica que as diferenças entre as taxas de ovulação e detecção de estro nas novilhas que foram inseminadas foram resultantes de estro silencioso ao invés de erro humano. Nos Experimentos 1 e 3, as novilhas foram aleatoriamente, porém desproporcionalmente distribuídas aos tratamentos em ordem para diminuir o impacto da menor taxa de prenhez que era esperada [2] para os tratamentos Controle.

No Experimento 2, tratamento com 200 UI de eCG na remoção do CIDR aumentou a taxa de detecção de estro em 7 dias e a proporção de novilhas induzidas a ovular. Em protocolos de IATF, a eCG tem sido associada a maior crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante a IA e taxa de ovulação [29-33]. Possivelmente, devido ao maior diâmetro folicular e subsequente aumento na concentração de estradiol, as novilhas tratadas com eCG tiveram maiores taxas de detecção de estro e ovulação.

Nos Experimentos 3 e 4, a hipótese inicial foi que novilhas que recebessem eCG mais ECP teriam maiores taxas de detecção de estro e indução de ovulação comparadas as novilhas tratadas apenas com CIDR, CIDR mais eCG ou CIDR mais ECP, e que eCG ou ECP teriam respostas similares. A justificativa para esta hipótese foi que a eCG iria promover um maior desenvolvimento folicular enquanto que o ECP iria aumentar as concentrações de estradiol, melhorando o estímulo ovulatório e o comportamento estral. Baseados nos presentes resultados, esta hipótese foi parcialmente aceita. A combinação de eCG e ECP aumentou as taxas de detecção de estro e indução de ovulação comparadas as novilhas tratadas apenas com CIDR ou CIDR mais eCG no Experimento 3. Sendo este resultado suportado quando foi comparada a taxa de prenhez após IA ou monta natural. Entretanto, no Experimento 4, as novilhas tratadas com a combinação eCG e ECP não diferiram das novilhas tratadas apenas com eCG ou ECP (Tabela 1). As novilhas no Experimento 4 eram mais pesadas que aquelas no Experimento 3 ($328 \pm 1,1$ vs $306 \pm 0,99$ Kg, respectivamente), especula-se que as novilhas no Experimento 4 estavam mais perto da puberdade espontânea e provavelmente um menor estímulo foi necessário para induzir ovulação. Esta especulação é suportada pela observação que a ovulação foi de 75% nas novilhas no Experimento 4 no tratamento somente com o CIDR, enquanto que a ovulação foi induzida em apenas 45% das novilhas neste tratamento no Experimento 3.

Outros pesquisadores [16, 19] avaliaram o impacto do estradiol exógeno após o tratamento com CIDR na indução da ovulação. Em novilhas *Bos taurus*, administração de benzoato de estradiol (BE) 24 a 30 horas após a remoção do CIDR aumentou a

expressão de estro (81 vs 37%) e desenvolvimento de um CL normal (68 vs 44%) comparado as novilhas tratadas apenas com CIDR [16]. Baruselli et al. [19] sumarizaram alguns estudos utilizando CIDR para induzir puberdade. Os autores relataram que a adição de uma única dose de BE no momento da inserção ou ECP na retirada do dispositivo não melhoram as taxas de indução de puberdade acima daquelas obtidas apenas com o CIDR. Contudo, em outro estudo, o tratamento com BE ou ECP ao final de um tratamento com de 10 dias com CIDR aumentou a indução de puberdade em comparação as novilhas que receberam apenas o CIDR.

Peso alvo em novilhas *Bos taurus* antes de sua primeira estação de monta para aumentarem a taxa de prenhez têm sido intensamente investigados e o limite de 55 a 65% do peso corporal adulto tem sido proposto [34,35]. O presente estudo utilizou novilhas Nelore comerciais, que são tipicamente criadas em ambientes mais extensivos com o objetivo da primeira concepção ocorrer aos 2, 3 anos de idade. Neste sistema de produção, 300 Kg de peso corporal antes da inseminação tem sido estabelecido com um importante limite [36]. No presente estudo, novilhas pesadas (> 300 Kg) tiveram maiores taxas de detecção de estro e indução de ovulação do que novilhas leves em todos os experimentos (interações entre peso corporal e tratamentos não foram detectadas).

Em conclusão, tratamento com P4 por 12 dias aumentou a taxa de indução de ovulação em novilhas Nelore pré-púberes; este efeito foi incrementado pelo uso de eCG e/ou ECP na remoção do CIDR. O CIDR de quarto uso sozinho induziu ovulação, e um segundo tratamento sequencial aumentou a indução de ovulação e prenhez. A adição de eCG ou e ECP e especialmente a combinação eCG mais ECP aumentou as taxas de detecção de estro e ovulação com um aumento subsequente na taxa de prenhez (que ocorreu no início da estação de monta). Contudo, para alcançar resultados satisfatórios, é essencial que as novilhas tenham peso corporal adequado ao início do tratamento. Diversas estratégias podem ser desenvolvidas baseadas nestes resultados, como, detecção de estro e IA, indução e serviço natural ou indução previa a estação de monta seguida por protocolos de IATF.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Pfizer Saúde Animal e ao CNPq e FAPESP pela concessão da bolsa de estudo.

5. Referências

- [1] Yelich JV, Wettemann RP, Marston TT, Spicer LJ. Luteinizing hormone, growth hormone, insulin-like growth factor-I, insulin and metabolites before puberty in heifers fed to gain at two rates. *Domest Anim Endocrinol.* 1996;13:325-38.
- [2] Júnior IC, Peres R, Aono F, Day M, Vasconcelos J. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology.* 2010;74:903-11.
- [3] Cardoso D, Nogueira GP. Mecanismos neuroendócrinos envolvidos na puberdade de novilhas; Neuroendocrine mechanisms in puberty heifers; Mecanismos neuroendócrinos involucrados en la pubertad de novillas. *Arq ciênc vet zool UNIPAR.* 2007;10:59-67.
- [4] Eler JP, Silva JA, Ferraz JB, Dias F, Oliveira HN, Evans JL, et al. Genetic evaluation of the probability of pregnancy at 14 months for Nellore heifers. *J Anim Sci.* 2002;80:951-4.
- [5] Day M, Imakawa K, Garcia-Winder M, Zalesky D, Schanbacher B, Kittok R, et al. Endocrine mechanisms of puberty in heifers: estradiol negative feedback regulation of luteinizing hormone secretion. *Biol Reprod.* 1984;31:332-41.
- [6] Wiltbank MC, Gümen A, Sartori R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology.* 2002;57:21-52.
- [7] Day M, Imakawa K, Wolfe P, Kittok R, Kinder J. Endocrine mechanisms of puberty in heifers. Role of hypothalamo-pituitary estradiol receptors in the negative feedback of estradiol on luteinizing hormone secretion. *Biol Reprod.* 1987;37:1054-65.
- [8] Day ML, Anderson LH. Current Concepts on the Control of Puberty in Cattle. *Journal of Animal Science.* 1998;76:1-15.
- [9] Gasser C, Grum D, Mussard M, Fluharty F, Kinder J, Day M. Induction of precocious puberty in heifers I: enhanced secretion of luteinizing hormone. *J Anim Sci.* 2006;84:2035-41.
- [10] Gasser C, Burke C, Mussard M, Behlke E, Grum D, Kinder J, et al. Induction of precocious puberty in heifers II: advanced ovarian follicular development. *J Anim Sci.* 2006;84:2042-9.

- [11] Gasser C, Bridges G, Mussard M, Grum D, Kinder J, Day M. Induction of precocious puberty in heifers III: hastened reduction of estradiol negative feedback on secretion of luteinizing hormone. *J Anim Sci.* 2006;84:2050-6.
- [12] Gasser C, Behlke E, Grum D, Day M. Effect of timing of feeding a high-concentrate diet on growth and attainment of puberty in early-weaned heifers. *J Anim Sci.* 2006;84:3118-22.
- [13] Quadros SAF, Lobato JFP. Bioestimulação e comportamento reprodutivo de novilhas de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2004;33.
- [14] Anderson L, McDowell C, Day M. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. *Biol Reprod.* 1996;54:1025-31.
- [15] Imwalle DB, Patterson DJ, Schillo KK. Effects of melengestrol acetate on onset of puberty, follicular growth, and patterns of luteinizing hormone secretion in beef heifers. *Biol Reprod.* 1998;58:1432-6.
- [16] Rasby R, Day M, Johnson S, Kinder J, Lynch J, Short R, et al. Luteal function and estrus in peripubertal beef heifers treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without a subsequent injection of estradiol. *Theriogenology.* 1998;50:55-63.
- [17] Madgwick S, Evans AC, Beard AP. Treating heifers with GnRH from 4 to 8 weeks of age advanced growth and the age at puberty. *Theriogenology.* 2005;63:2323-33.
- [18] Pfeifer LF, Siqueira LG, Mapletoft RJ, Kastelic JP, Adams GP, Colazo MG, et al. Effects of exogenous progesterone and cloprostenol on ovarian follicular development and first ovulation in prepubertal heifers. *Theriogenology.* 2009;72:1054-64.
- [19] Baruselli P, Sales J, Crepaldi G, Sá Filho M. Inducción de ciclicidad en vaquillonas cebu y sus cruasas. VIII SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION ANIMAL - IRAC. Cordoba2009. p. 1-13.
- [20] Bergfeld E, Kojima F, Cupp AS, Wehrman M, Peters K, Mariscal V, et al. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females. *Biology of reproduction.* 1996;54:546-53.
- [21] Meneghetti M, Sá Filho OG, Peres RF, Lamb GC, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. *Theriogenology.* 2009;72:179-89.

- [22] Houghton P, Lemenager R, Moss G, Hendrix K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *Journal of animal science*. 1990;68:1428-37.
- [23] Sá Filho OG, Thatcher WW, Vasconcelos JL. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. *Anim Reprod Sci*. 2009;112:95-106.
- [24] Kinder JE, Kojima FN, Bergfeld EG, Wehrman ME, Fike KE. Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*. 1996;74:1424-40.
- [25] Sá Filho OG, Patterson DJ, Vasconcelos JLM. Development of estrous synchronization protocols using melengestrol acetate in *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*. 2009;87:1981-90.
- [26] Perry GA, Kojima FN, Salfen BE, Bader JF, Patterson DJ, Smith MF. Effect of an orally active progestin on follicular dynamics in cycling and anestrous postpartum beef cows. *J Anim Sci*. 2002;80:1932-8.
- [27] Sartori R, Barros CM. Reproductive cycles in *Bos indicus* cattle. *Anim Reprod Sci*. 2011;124:244-50.
- [28] Reames PS, Hatler TB, Hayes SH, Ray DL, Silvia WJ. Differential regulation of estrous behavior and luteinizing hormone secretion by estradiol-17 β in ovariectomized dairy cows. *Theriogenology*. 2011;75:233-40.
- [29] Peres RF, Claro I, Sá Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JL. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*. 2009;72:681-9.
- [30] Sá Filho MF, Ayres H, Ferreira RM, Marques MO, Reis EL, Silva RC, et al. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. *Theriogenology*. 2010;73:651-8.
- [31] Sá Filho M, Torres-Júnior J, Penteado L, Gimenes L, Ferreira R, Ayres H, et al. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Anim Reprod Sci*. 2010;118:182-7.

- [32] Dias CC, Wechsler FS, Day ML, Vasconcelos JL. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2009;72:378-85.
- [33] Sá Filho O, Meneghetti M, Peres R, Lamb G, Vasconcelos J. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 2009;72:210-8.
- [34] Taylor CS, Fitzhugh HA. Genetic relationships between mature weight and time taken to mature within a breed. *J Anim Sci*. 1971;33:726-31.
- [35] Funston RN, Deutscher GH. Comparison of target breeding weight and breeding date for replacement beef heifers and effects on subsequent reproduction and calf performance. *J Anim Sci*. 2004;82:3094-9.
- [36] Alencar MM, Costa JL, Corrêa LA. Desempenho produtivo de fêmeas das raças Canchim e Nelore. I. Desenvolvimento e puberdade. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 1987;22.

CAPÍTULO 3

Intervalo entre indução da primeira ovulação e início do protocolo de IATF em novilhas Nelore pré-púberes

Intervalo entre indução da primeira ovulação e início do protocolo de IATF em novilhas Nelore pré-púberes

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar se o intervalo entre o protocolo de indução da primeira ovulação e o início do protocolo de IATF em novilhas Nelore pré-púberes influencia o diâmetro folicular, taxas de concepção e prenhez. Foram utilizadas 950 novilhas Nelore induzidas para a primeira ovulação em protocolo a base de P4 descrito previamente (Rodrigues et al., *Theriogenology*; 2013; 79:135-41). As novilhas que responderam à indução de ovulação foram sincronizadas para a IATF 10, 12 ou 14 dias após a indução. O protocolo de IATF consistiu em: Dia 0: inserção de um dispositivo intravaginal contendo 1,9 g de P4 (3º uso; CIDR®, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e 2 mg im de benzoato de estradiol (2,0 mL, Gonadiol®, MSD Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil); Dia 9: O CIDR foi removido e foi administrado 12,5 mg im de dinoprost trometamina (PGF2 α ; 2,5 mL Lutalyse®, Pfizer Saúde Animal) mais 0,5 mg im de cipionato de estradiol (0,3 mL, ECP® Pfizer Saude Animal) e no Dia 11, 48 horas após a retirada do CIDR a IATF foi realizada. As novilhas foram avaliadas por ultrassonografia nos Dias 9 e 11 para mensuração do maior folículo presente nos ovários e determinar a presença de CL e 30 dias após a IA avaliar a taxa de prenhez. Amostras de sangue foram colhidas nos Dias 9 e 18 para determinar as concentrações circulantes de P4. As variáveis contínuas foram analisadas utilizando o PROC MIXED e as binomiais utilizando o PROC GLIMMIX, ambos do SAS. Houve efeito do momento de início do protocolo de IATF ($P = 0,0024$) na presença de CL no Dia 9 e as novilhas sincronizadas 10 dias (44%) após a indução da primeira ovulação apresentaram maior percentagem de animais com CL comparadas as dos Grupos 12 e 14 (32,8 e 28,4%, respectivamente). Não houve efeito do momento de início do protocolo na concentração de P4 no Dia 9 ($P > 0,1$), entretanto houve efeito da presença de CL. Novilhas com CL no Dia 9 tiveram maiores concentrações de P4 do que novilhas sem CL ($P = 0,0009$; $2,34 \pm 0,34$ vs $1,95 \pm 0,33$ ng/mL, respectivamente). O diâmetro folicular no Dia 9 foi influenciado pelo tratamento, novilhas sincronizadas 12 dias após a indução apresentaram maior diâmetro folicular do que novilhas no Grupo10 sendo as novilhas no Grupo14 intermediárias ($P = 0,0039$; $9,96 \pm 0,26$ vs $9,31 \pm 0,26$ vs $9,92 \pm 0,26$ mm, respectivamente), e também, novilhas com CL no Dia 9 tiveram menores folículos do que novilhas sem CL ($P < 0,0001$; $9,24 \pm 0,26$ vs $10,23$

$\pm 0,23$ mm, respectivamente). O diâmetro do folículo no momento da IA não diferiu entre os grupos ($P > 0,1$; $10,72 \pm 0,09$ mm). A taxa de ovulação não diferiu entre os tratamentos ($P > 0,1$; 87%), entretanto a concepção foi maior para as novilhas dos Grupos 12 e 14 do que para novilhas no Grupo 10 ($P = 0,0472$; 52,1 vs 47,4 vs 39,2%, respectivamente). A taxa de prenhez foi maior para novilhas no Grupo 12 do que novilhas no Grupo 10, sendo as novilhas do Grupo 14 intermediárias ($P = 0,0429$; 45,2 vs 33,1 vs 40,3%, respectivamente). De acordo com os presentes resultados, o início do protocolo de IATF 12 dias após a indução da primeira ovulação resultou em maiores taxas de fertilidade quando comparados ao início 10 ou 14 dias após.

Palavras-chave: Novilhas pré-púberes, indução, puberdade, IATF

Interval from first ovulation induction to beginning of the time-AI protocol in prepubertal heifers

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate if the interval between the first ovulation induction protocol and the beginning of the time-AI protocol in prepubertal Nelore heifers affect the follicular diameter, conception and pregnancy rates. 950 Nelore heifers were used inducted to their first ovulation in a progesterone based protocol previously described (Rodrigues et al., *Theriogenology*; 2013; 79:135-41). Heifers that responded to the ovulation induction protocol were synchronized for time-AI 10, 12 or 14 days after ovulation induction. The time-AI protocol was as following: Day 0: insert of an intravaginal device contain 1.9 g of P4 (3rd use; CIDR®; Pfizer Animal Health, São Paulo, SP, Brazil) and 2 mg im of estradiol benzoate (2.0mL Gonadiol®, MSD Animal Health, São Paulo, SP, Brazil); Day 9: the CIDR was removed and was administrated 12.5 mg im dinoprost tromethamine (PGF2 α ; 2.5 mL Lutalyse®; Pfizer Animal Health) plus 0.5 mg im ECP (0.3 mL ECP®, Pfizer Animal Health) and Day 11, forty eight hours after CIDR withdrawal time-AI was performed. Heifers were evaluated by ultrasonography at Days 9 and 11 to record the greatest follicle present on ovaries and to determine the presence of a CL and 30 days after AI to evaluate pregnancy. Blood samples were harvest at Days 9 and 18 to determiner serum P4 concentrations. The continuous variables were analyzed using PROC MIXED and binomial variables using PROC GLIMMIX from SAS. Was an effect of the moment to started time-AI protocol ($P = 0.0024$) on CL presence at Day 9, heifers synchronized 10 days (44%) after first ovulation induction had greater percentage of heifers with a CL than Groups 12 and 14 (32,8 and 28.4%, respectively). Did not was an effect of the interval to start time-AI on progesterone concentrations on Day 9 ($P > 0.1$), however, was effect of CL presence. Heifers with CL on Day 9 had greater progesterone concentrations than heifers without a CL ($P = 0.0009$; 2.34 ± 0.34 vs 1.95 ± 0.33 ng/mL, respectively). The follicular diameter on Day 9 was influenced by treatment, heifers synchronized 12 days after ovulation induction had greater diameter than heifers in Grupo10, being heifers in Group14 intermediated ($P = 0.0039$; 9.96 ± 0.26 vs 9.31 ± 0.26 vs 9.92 ± 0.26 mm, respectively) and also, heifers with a CL on Day 9 had smaller

follicles than heifers without a CL ($P < 0.0001$; 9.24 ± 0.26 vs 10.23 ± 0.23 mm, respectively). The follicular diameter at time-AI did not differ between groups ($P > 0.1$; 10.72 ± 0.09 mm). Ovulation rate did not differ between groups ($P > 0.1$; 87%), however, conception rate were greater for heifers in Group12 and 14 than heifers in Group10 ($P = 0.0472$; 52.1 vs 47.4 vs 39.2%, respectively). Pregnancy rate were greater for heifers in Group12 than heifers in Group10, being heifers in Group14 intermediate ($P = 0.0429$; 45.2 vs 33.1 vs 40.3% respectively). Based on this results, the beginning of the time-AI protocol 12 days after the first ovulation induction resulted in greater fertility rates when compare to the beginning 10 or 14 days after.

Keywords: Prepubertal heifers, induction, puberty, time-AI

1. Introdução

A emergência da onda folicular em protocolos de sincronização da ovulação a base de progesterona (P4) e estrógenos (E2) ocorre aproximadamente quatro dias após o início do protocolo [1] com o desvio folicular ocorrendo ao redor do dia 7 [2]. Neste momento o folículo torna-se dependente de LH para seu crescimento e elevadas concentrações de P4 alteram o padrão de liberação de LH [3].

A concentração sérica de P4 durante o desenvolvimento do folículo pós divergência afeta o diâmetro do folículo ovulatório, bem como as taxas de ovulação, concentração de P4 sete dias após a IA, concepção e prenhez em novilhas [4-6], vacas cíclicas lactantes [7,8] e não lactantes [6]. Para aumentar a fertilidade em animais cíclicos é importante reduzir as concentrações de P4 após o estabelecimento da dominância folicular para estimular o desenvolvimento final deste folículo [3,4].

Em novilhas, protocolos de IATF apresentam maior variabilidade de resultados se comparados a vacas lactantes e não lactantes [7,8], possivelmente devido à alta proporção de novilhas com folículos pequenos [9]. Algumas estratégias têm sido utilizadas para aumentar o diâmetro do folículo no momento da IA e consequentemente fertilidade. O uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) possui efeitos benéficos na fertilidade em protocolos de sincronização com alta P4 (ex.: Dispositivos intravaginais de P4 de 1º uso, administração de PGF2 α no Dia 9) [6, 7]. A utilização de dispositivos de P4 previamente utilizados é uma alternativa para melhorar o desenvolvimento folicular, possivelmente devido a menor concentração de P4 que estimula a liberação de gonadotrofinas através do eixo hipotálamo-hipófise [5,6] resultando em similar desempenho reprodutivo quando um dispositivo previamente utilizado por três vezes foi comparado a um dispositivo novo com adição de tratamento com a eCG [6].

A antecipação da administração PGF2 α dois dias antes da remoção do dispositivo intravaginal em protocolos a base de E2/P4 causa regressão lútea, levando a redução nas concentrações circulantes de P4 em vacas e novilhas cíclicas [5-8]. Esta redução na concentração de P4 ao final do protocolo de sincronização é associada a melhor desenvolvimento do folículo dominante/ovulatório e fertilidade [5-8], entretanto, devido à adição de um manejo adicional alguns produtores não utilizam esta estratégia. Adicionalmente, Bridges et al. [10] relataram que aumentando o período entre administração da PGF2 α e a IATF (i. e. proestro) em fêmeas *Bos taurus* aumentou a taxa de prenhez. Em contraste, resultados recentes indicaram que

aumento do proestro para além de quatro dias não melhorou a fertilidade em novilhas Nelore cíclicas [9].

O objetivo deste estudo foi avaliar se o intervalo entre o protocolo de indução da primeira ovulação em novilhas pré-púberes e início do protocolo de IATF, sem antecipação da aplicação de PGF2 α altera o desenvolvimento folicular, concentração de P4 e taxa de prenhez em novilhas de corte. A hipótese deste estudo foi de que novilhas com 12 ou 14 dias de intervalo entre o protocolo de indução da primeira ovulação e início do protocolo de IATF teriam maior fertilidade devido a uma maior proporção de luteólise espontânea durante o protocolo de IATF aumentando o diâmetro folicular e a prenhez.

2. Material e Métodos

Um total de 950 novilhas Nelore pré-púberes, sem a presença de corpo lúteo (CL) em dois exames ultrassonográficos (US) consecutivos com transdutor linear multifrequencial na opção 7,5 MHz (Mindray – 2200VET DP; Mindray Bio-Medical Electronics Co., Shenzhen, China) com sete dias de intervalo, foram utilizadas neste estudo. As novilhas eram pertencentes a duas fazendas localizadas no estado de Mato Grosso, Brasil (Fazenda 1, n = 397; Fazenda 2, n = 553). No início do período experimental as novilhas tinham $24,8 \pm 0,13$ meses de idade, escore de condição corporal (ECC) de $3,02 \pm 0,01$ (1 = emaciada e 5 = obesa, [11]) e pesaram $327,7 \pm 1,11$ Kg. As novilhas foram mantidas em pastos de *Brachiaria brizantha* e acesso *ad libitum* a água e suplemento mineral. O experimento foi conduzido entre Novembro de 2010 e Abril de 2011.

Este experimento foi dividido em duas fases. A primeira fase do experimento compreendeu a avaliação de um protocolo para indução da primeira ovulação em novilhas pré-púberes. Um CIDR previamente utilizado por três vezes foi utilizado por 12 dias para promover o estímulo necessário para a ocorrência da ovulação [12]. Na segunda fase do experimento, a taxa de prenhez foi avaliada em novilhas sincronizadas em diferentes momentos após o protocolo de indução da primeira ovulação. Para tal, o protocolo de indução foi iniciado em três diferentes momentos, com dois dias de intervalo entre cada e o protocolo de IATF iniciado 10 dias após a retirada do CIDR no ultimo grupo (tratamento). Desta maneira, no Dia 0 (início da IATF), três grupos experimentais foram formados: Grupo14 – Protocolo de IATF iniciando 14 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação; Grupo12 –

Protocolo de IATF iniciado 12 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação; Grupo10 – Protocolo de IATF iniciado 10 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação (Figura 1).

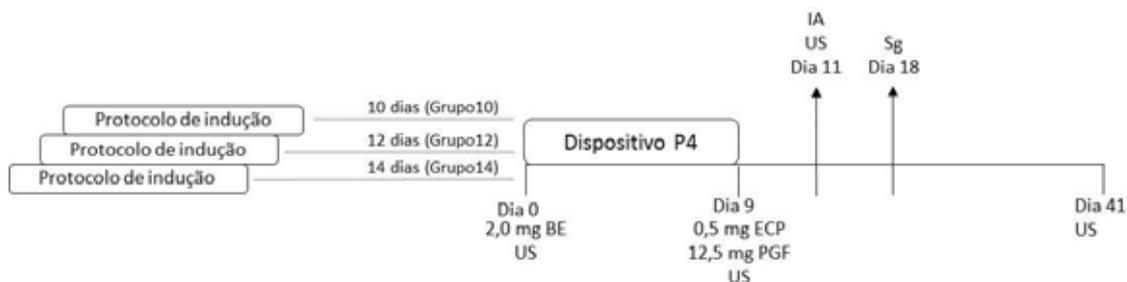


Figura 1 - Diagrama esquemático do modelo experimental. Protocolo para indução da primeira ovulação em novilhas Nelore pré-púberes [12] iniciado com intervalo de 2 dias entre cada. Dia 0, início do protocolo de IATF nos grupos experimentais formados: Grupo10 – Protocolo de IATF iniciado 10 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação; Grupo12– Protocolo de IATF iniciado 12 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação; Grupo14 – Protocolo de IATF iniciado 14 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação. US: avaliação ultrassonográfica (Dias 0, 9 e 41); Sg: Colheita de sangue para dosagem sérica de P4 (Dias 9 e 18).

O pico de estro ocorreu três dias após a retirada do CIDR no protocolo de indução da ovulação [13], desta maneira, esperava-se que as novilhas no Grupo 14 (n = 256) no Dia 0, tivessem um CL com 11 dias de idade, o qual era esperado que naturalmente regressisse ao redor do Dia 5 do protocolo de IATF, como sugerido em estudo com novilhas *Bos indicus* [13], que detectou diminuição na concentração de P4 ao redor do dia 16 do ciclo estral em novilhas Nelore. As novilhas do Grupo12 (n = 256) teriam um CL ao redor de nove dias de idade no Dia 0, o qual se esperava que naturalmente regrida no Dia 7 do protocolo de IATF e as novilhas no Grupo10 (n = 253) teriam um CL com aproximadamente 7 dias de idade no Dia 0, e esperava-se que regrida naturalmente ao redor do Dia 9 do protocolo de IATF.

No Dia 0, uma avaliação por US foi realizada para determinar a taxa de ovulação do protocolo de indução. Deste momento em diante, apenas novilhas detectadas com CL foram sincronizadas com o seguinte protocolo de IATF: Dia 0: Inserção de um dispositivo intravaginal previamente utilizado que originalmente continha 1,9 g de P4 (3º uso; CIDR®, Pfizer Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil) e 2 mg im de benzoato de estradiol (2,0 mL; Gonadiol®, MSD Saúde Animal, São Paulo, SP, Brasil); Dia 9: Remoção do CIDR, administração de 12,5 mg im de dinoprost trometamina (PGF2α ; 2,5 mL Lutalyse®; Pfizer Saúde Animal) e 0,5 mg im de cipionato de estradiol (0,3 mL

ECP®, Pfizer Saúde Animal) e no Dia 11, 48 horas após a remoção do CIDR, a IATF foi realizada.

Avaliações por US foram realizadas no Dia 9 e antes da IATF (Dia 11) em um subgrupo de animais (Grupo10 = 199; Grupo12 = 214 e Grupo 14 = 205) para avaliar o diâmetro do maior folículo presente nos ovários através da média do maior diâmetro e do diâmetro perpendicular a ele e 30 dias após a IA para diagnóstico de prenhez. Amostras de sangues foram colhidas no Dia 9 (concomitante com a retirada do CIDR; apenas nos animais avaliados por US) e no Dia 18 (sete dias após a IATF) da veia coccígea em tubos vacutainer (10 mL; Becton Dickinson Co., Franklin Lakes, NJ, EUA). Após a colheita, os tubos foram imediatamente colocados em gelo, mantidos a temperatura de 4°C por 12 horas e centrifugados a 1500 g por 15 minutos em temperatura ambiente para a colheita do soro. O soro foi armazenado a -20°C para subsequente análise da concentração de P4. Concentrações séricas de P4 foram determinadas utilizando kit de radioimunoensaio de fase sólida (Coat-a-count; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) de acordo com as especificações do fabricante. A sensibilidade do ensaio foi de 0,04 ng/mL e coeficiente de variação inter-ensaio foi de 3,6% e intra-ensaio de 1,5%.

2.1. Análise Estatística

Os dados foram analisados como um delineamento completamente ao acaso. Comparações iniciais foram realizadas, utilizando o PROC ANOVA do SAS (SAS Institute Ins., Cary, NC, EUA) para assegurar que a distribuição das novilhas por idade, ECC e peso corporal (PC) foram homogêneos entre os tratamentos.

As variáveis binomiais dependentes foram analisadas pelo PROC GLIMMIX do SAS (SAS Institute Inc.) com aproximação SATTERRHWAITE para determinar os graus de liberdade para os testes dos efeitos fixos. Os efeitos de fazenda, tratamento, ECC, PC, pasto, inseminador, touro e interações apropriadas foram considerados nos modelos preliminares para análise das variáveis binomiais dependentes. As variáveis contínuas (ex.: Concentração de P4 e diâmetro folicular) foram analisadas pelo PROC MIXED do SAS (SAS Institute Inc.) com aproximação SATTERRHWAITE para determinar os graus de liberdade para os testes dos efeitos fixos e foram considerados nos modelos preliminares os efeitos de tratamento, presença de CL no Dia 9 e devidas interações. Quando necessário, as variáveis contínuas foram correlacionadas utilizando o procedimento de PEARSON no PROC CORR do SAS (SAS Institute Inc.). Nos

modelos finais, as variáveis não significativas foram removidas do modelo quando $P > 0,2$ (critério de Wald). Os resultados foram reportados como a média dos quadrados mínimos e comparadas pelo comando PDIFF.

A taxa de ovulação foi calculada utilizando as novilhas que tinham concentração de P4 acima de 1 ng/mL no Dia 18 (sete dias após a IA). A taxa de concepção foi calculada dividindo o número de novilhas prenhes pelo total de novilhas ovuladas e a taxa de prenhez foi calculada dividindo o número de novilhas prenhes pelo total de novilhas tratadas. No modelo final para presença de CL no D9 os efeitos de tratamento foram incluídos. Para análise da concentração de P4 e diâmetro folicular no Dia 9, foram incluídos no modelo final os efeitos de tratamento, presença de CL no Dia 9 e a interação. Para análise do diâmetro folicular no dia da IATF foram incluídos no modelo final os efeitos de tratamento e presença de CL no Dia 9. No modelo final para as taxas de concepção e prenhez foram incluídos os efeitos de tratamentos.

A probabilidade das vacas se tornarem gestantes à IATF foi avaliada de acordo com a concentração de P4 no Dia 9, diâmetro do folículo pré-ovulatório no Dia 9 e 11 e concentração de P4 no Dia 18. O PROC GLM do SAS (SAS Institute Inc.) foi inicialmente utilizado para determinar se cada variável individualmente influenciou a prenhez de maneira linear, quadrática ou cubica. O PROC LOGISTIC do SAS (SAS Institute Inc.) foi usado para gerar os modelos de regressão, determinando os valores do intercept e slopes de acordo com a probabilidade máxima estimada para cada efeito significativo e a probabilidade de concepção foi determinada de acordo com a seguinte equação: $\text{Probabilidade} = \frac{e^{a_0 + a_1x}}{1 + e^{a_0 + a_1x}}$.

Análise através da curva ROC foi utilizada para determinar a concentração de P4 no Dia 9 que resultasse na maior sensibilidade e especificidade para predição da prenhez. A partir do valor obtido com a curva ROC foram realizadas análises individuais dos efeitos de tratamento em novilhas classificadas como ALTA ($> 2,8$ ng/mL) e BAIXA P4 ($\leq 2,8$ ng/mL) utilizando o PROC GLIMMIX do SAS (SAS Institute Inc.). Para todas as análises, diferenças foram consideradas significantes quando $P \leq 0,05$, enquanto que tendências foram consideradas quando $P \leq 0,1$ e $> 0,05$.

3. Resultados

Novilhas em que o protocolo de IATF foi iniciado 10 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação tiveram maior ($P = 0,0024$) proporção de novilhas com CL no Dia 9 em comparação as novilhas sincronizadas 12 ou 14 dias após o protocolo

de indução da primeira ovulação (Tabela 1). Concentração de P4 no Dia 9 não foi diferente entre os tratamentos ($P > 0,1$) sendo a média de $2,34 \pm 0,6$ ng/mL, entretanto foi afetada pela presença de CL no Dia 9. As novilhas com CL no Dia 9 tiveram maior ($P = 0,0009$) concentração de P4 do que novilhas sem CL ($2,34 \pm 0,34$ ng/mL vs $1,95 \pm 0,33$ ng/mL, respectivamente).

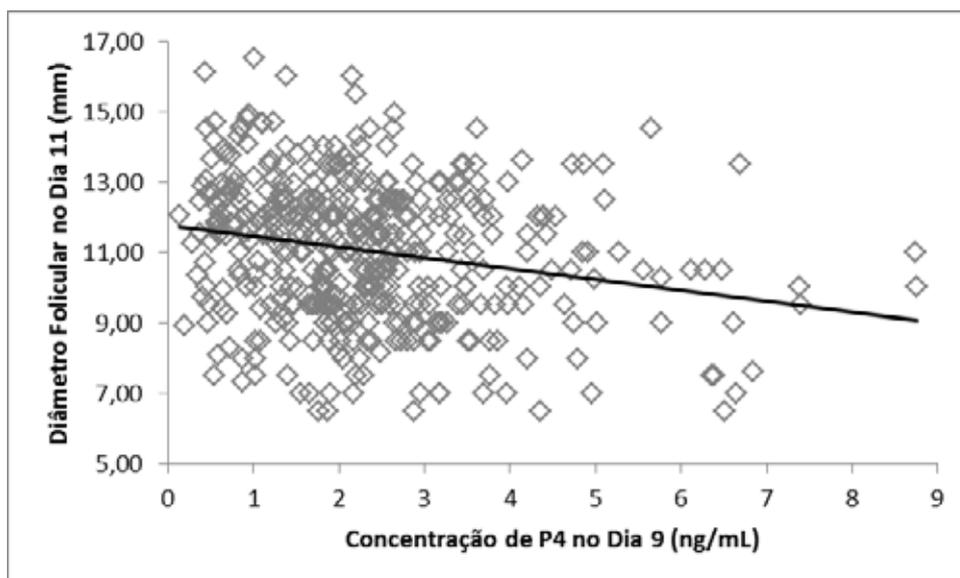


Figura 2 - Relação entre concentração de P4 no Dia 9 e diâmetro folicular no Dia 11 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF.

O diâmetro folicular no Dia 9 foi afetado pelo tratamento ($P = 0,0039$) e presença de CL no Dia 9 ($P < 0,0001$), novilhas no Grupo10 tiveram menores folículos em comparação aos outros tratamentos (Tabela 1). Adicionalmente, novilhas sem CL tiveram maior diâmetro folicular em comparação a novilhas com CL no Dia 9 ($10,23 \pm 0,23$ vs $9,24 \pm 0,26$ mm, respectivamente).

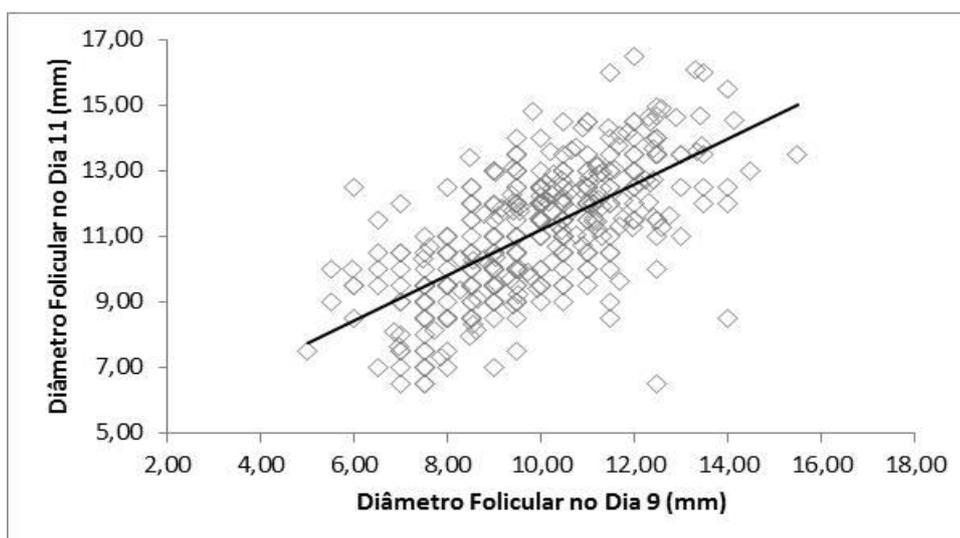


Figura 3 - Relação entre diâmetro folicular no Dia 9 e diâmetro folicular no Dia 11 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF.

O diâmetro folicular no momento da IA não diferiu entre os tratamentos (Tabela 1). Em contraste, novilhas com CL no Dia 9 tiveram menor ($P = 0,0001$) diâmetro folicular na IATF do que novilhas sem CL ($10,61 \pm 0,36$ vs $11,46 \pm 0,34$ mm, respectivamente). O diâmetro folicular no momento da IA foi influenciado negativamente pela concentração de P4 no Dia 9 ($P = 0,0006$; Figura 2) e positivamente correlacionado ($P < 0,0001$) com o diâmetro folicular no Dia 9 (Figura 3).

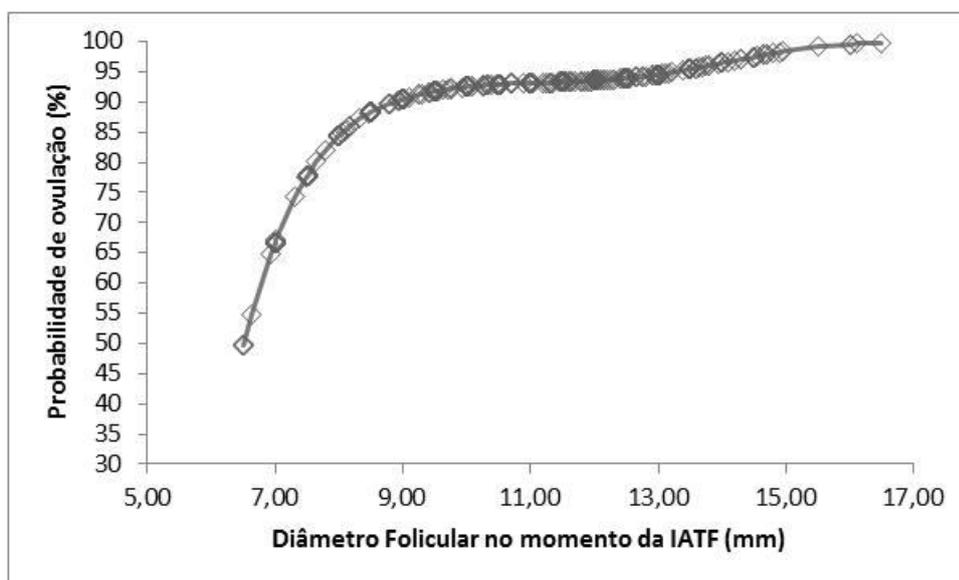


Figura 4 - Probabilidade de ovulação de acordo com o diâmetro folicular no Dia 11 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF.

A taxa de ovulação foi influenciada ($P < 0,0001$) pelo diâmetro folicular no momento da IA (Figura 4), entretanto, não foi diferente entre tratamentos (Tabela 1). A taxa de concepção foi maior ($P = 0,0472$) para as novilhas no Grupo12 em relação às novilhas no Grupo10, sendo que o Grupo14 foi intermediário e não diferiu dos demais tratamentos (Tabela 1).

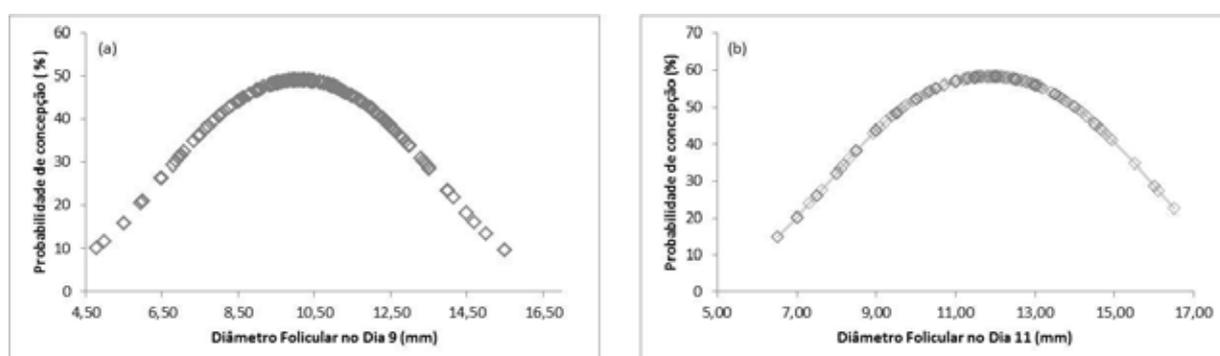


Figura 5 - Probabilidade de concepção de acordo com o diâmetro folicular no Dia 9 (a) e 11 (b) em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF.

Adicionalmente, a taxa de concepção foi afetada pelo diâmetro folicular no Dia 9 ($P = 0,0005$; Figura 5a), Dia 11 ($P = 0,0006$; Figura 5b) e pela concentração de P4 no Dia 9 ($P = 0,0112$; Figura 6).

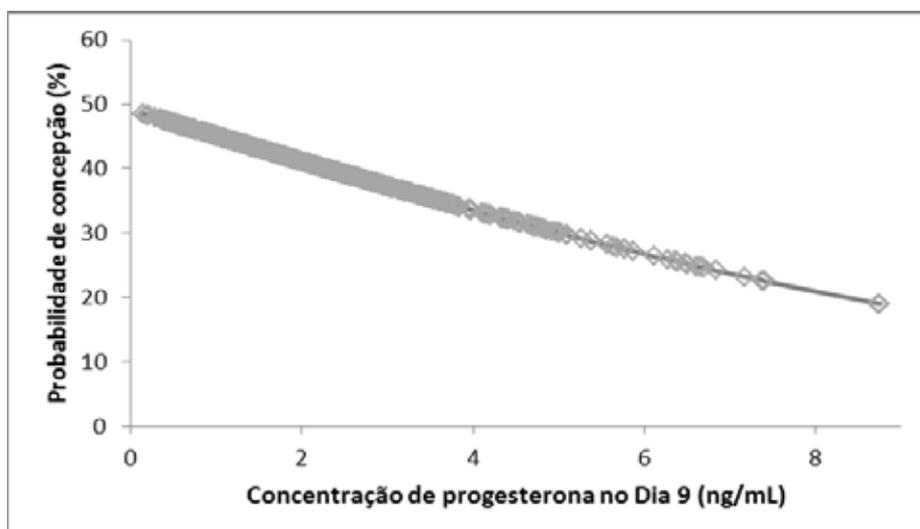


Figura 6 - Probabilidade de concepção de acordo com a concentração de P4 no Dia 9 em novilhas Nelore submetidas a protocolo de IATF.

Houve efeito do tratamento na taxa de prenhez ($P = 0,0429$), sendo que novilhas no Grupo12 tiveram maior taxa de prenhez em comparação às novilhas no Grupo10, sendo as novilhas no Grupo14 intermediárias, não diferindo dos demais tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1 Presença de corpo lúteo no Dia 9, diâmetro folicular no Dia 9 e 11, taxas de ovulação, concepção e prenhez em novilhas Nelore submetidas ao protocolo de IATF em diferentes dias após a indução da primeira ovulação.

Variáveis	Grupo10	Grupo12	Grupo14	Valor – P
CL no dia 9 (%)	44,0 ^a (85/199)	32,8 ^b (68/214)	28,4 ^b (56/205)	0,0024
Diâmetro Folicular no dia 9 (mm)	9,31 ± 0,26 ^a	9,96 ± 0,26 ^b	9,92 ± 0,26 ^b	0,0039
Diâmetro Folicular no dia 11 (mm)	10,96 ± 0,34	10,96 ± 0,34	11,17 ± 0,34	0,6472
Ovulação (%)	85,7 (216/253)	87,8 (237/265)	87,2 (226/256)	0,8077
Concepção (%)	39,2 ^a (84/216)	52,1 ^b (120/237)	47,4 ^{ab} (104/226)	0,0472
Prenhez (%)	33,1 ^A (84/253)	45,2 ^b (120/265)	40,3 ^{Ab} (104/256)	0,0429

a,b Dentro da linha, médias sem sobrescrito comum diferem ($P < 0,05$).

A, A Dentro da linha, médias com sobrescrito comum tenderam a diferir ($P < 0,1$).

Na análise realizada através da curva ROC, a concentração de P4 que resultou em maior sensibilidade (78,97% [intervalo de confiança de 95% = 73,2 a 84,0]) e especificidade (37,94% [intervalo de confiança de 95% = 33,0 a 43,1]) combinada foi de 2,8 ng/mL, utilizando este ponto de corte, a área embaixo da curva foi 0,569 (Intervalo de confiança de 95% = 0,528 a 0,609; $P = 0,0035$). Isto significa que 78,97% das novilhas prenhes tinham concentração de P4 $\leq 2,8$ ng/mL no Dia 9, enquanto que 37,94% das novilhas não prenhes tinham concentração de P4 $> 2,8$ ng/mL no Dia 9.

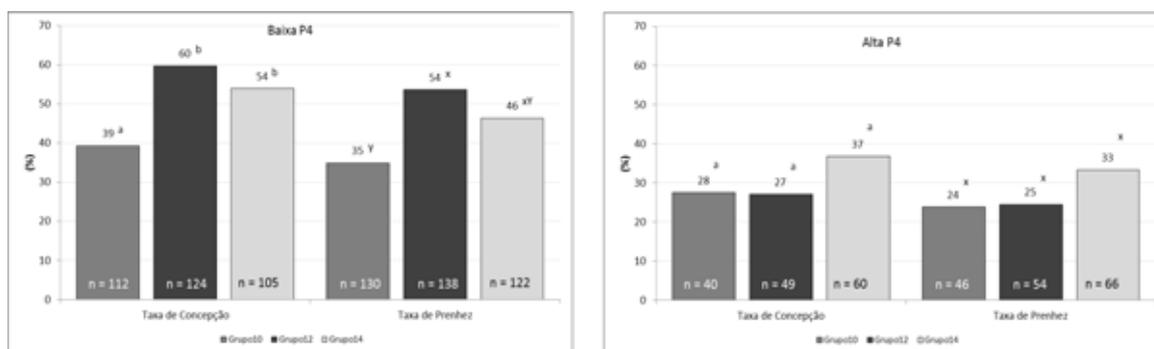


Figura 7 – Taxa de concepção e prenhez em novilhas classificadas como Baixa ($\leq 2,8$ ng/mL; a) ou Alta P4 ($> 2,8$ ng/mL; b) de acordo com o tratamento em novilhas Nelore submetidas à IATF.

Em seguida analisou-se separadamente o efeito de tratamento em relação ao ponto de corte definido pela curva ROC. Em novilhas classificadas como ALTA P4 ($> 2,8$ ng/mL) no Dia 9 não houve efeito do tratamento ($P > 0,1$) nas taxas de concepção e prenhez a IATF (Figura 7b). Entretanto, em novilhas classificadas com BAIXA P4 ($\leq 2,8$ ng/mL) no Dia 9, o tratamento alterou ($P = 0,0058$) as taxa de concepção e prenhez (Figura 7a).

4. Discussão

Este estudo avaliou se o intervalo para iniciar o protocolo IATF após um protocolo que induz a primeira ovulação em novilhas Nelore pré-púberes, sem a antecipação da aplicação de PGF2 α [6, 7], combinado a regressão espontânea do CL durante o protocolo de IATF altera a fertilidade. Iniciando o protocolo de IATF 12 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação resultou em maior concepção e prenhez comparado às novilhas com 10 dias de intervalo.

No ponto de vista fisiológico, a hipótese foi que iniciando o protocolo 12 ou 14 dias após a indução da primeira ovulação resultaria em maior percentual de novilhas com luteólise natural antes da remoção do dispositivo de P4, conseqüentemente com menor concentração de P4 após o desvio folicular (Dia 7) em relação ao tratamento

com 10 dias de intervalo, potencialmente melhorando o desenvolvimento folicular e ambiente uterino refletindo em maior taxa de prenhez.

Embora nenhuma diferença na concentração de P4 foi detectada entre os tratamentos, a presença de CL no Dia 9 foi maior para as novilhas no Grupo10 em relação aos Grupos 12 e 14 (Tabela 1). Em novilhas Nelore pré-púberes (ausência de CL) concentrações de P4 > 1 ng/mL foram detectadas [13], sendo associadas ao excitável temperamento desta categoria associado ao manejo animal [15]. Podendo este fator ser uma possível explicação para o aparente resultado contraditório, visto que houve diferenças na percentagem de novilhas com CL sem diferenças na concentração de P4. Sendo assim, análises das concentrações séricas de P4 podem resultar em um valor superestimado, portanto, avaliações do status púbere ou presença de CL nesta categoria animal devem sempre ser associadas à avaliação ultrassonográfica dos ovários.

A regressão espontânea do CL foi menor nas novilhas no Grupo10, entretanto apenas 44% das novilhas tinham CL no Dia 9. Como todas as novilhas tinham CL no início do protocolo de IATF, possivelmente em algumas novilhas a luteólise ocorreu antes do esperado. Uma alta incidência de luteólise prematura foi relatada após a primeira ovulação em novilhas [16], entretanto estudos prévios demonstraram que o tratamento com P4 antes da primeira ovulação pós-parto em vacas de corte diminuiu significativamente a percentagem de regressão prematura do CL [17], e também novilhas pré-púberes submetidas a um protocolo a base de P4 para induzir primeira ovulação e inseminadas em estro tiveram a mesma fertilidade que novilhas previamente ciclando inseminadas em estro [13] indicando que a incidência de luteólise prematura foi minimizada.

O diâmetro folicular no Dia 9 e 11 afetou a taxa concepção (Figura 5). Novilhas com folículos pequenos (< 10 mm) ou muito grandes (> 15 mm) tiveram menor fertilidade. Folículos pequenos induzidos a ovular são associados a menor fertilidade em novilhas e vaca *Bos taurus* [18, 19], novilhas *Bos indicus* [6, 9] e vacas leiteiras [20]. Uma possível razão é que quando folículos pequenos são induzidos a ovularem, originam um menor CL, que secretam menores concentrações de P4 no diestro subsequente [20] e concentrações adequadas de P4 durante o diestro são necessárias para estimular a secreção endometrial [21], desenvolvimento embrionário [22, 23] e reconhecimento materno e manutenção da gestação [24, 25]. Além disso, folículos pequenos são relacionados à menor secreção de estradiol que possivelmente

altera fertilidade [19, 20], transportação espermática [26], ambiente uterino [27, 28] e formação do CL subsequente [20].

Por outro lado, novilhas que ovularam folículos muito grandes a fertilidade também foi comprometida em novilhas e vacas *Bos taurus* [18, 19] e *Bos indicus* [9]. Há duas possíveis explicações para esta menor fertilidade, podendo ser devido à ocorrência de folículos persistentes, geralmente caracterizados como folículos grandes e velhos com reduzida fertilidade [29, 30] e também uma superestimulação pelo LH, o que levaria a um aumento no diâmetro folicular, entretanto, diminuição na qualidade oocitária [31].

Mesmo que as concentrações de P4 no Dia 9 não tenham diferido entre os tratamentos, o diâmetro folicular no Dia 9, taxas de concepção e prenhez foram afetadas pelo tratamento (Tabela 1). Especula-se que nos Grupos 12 e 14 a luteólise ocorreu antes em relação às novilhas do Grupo10 e este maior período sobre reduzidas concentrações de P4 foi associado a melhor fertilidade [6, 7, 10, 32]. Outros resultados que suporta esta hipótese é o diâmetro folicular no Dia 9, sendo que menores concentrações de P4 estimulam a liberação de LH aumentando o diâmetro do folículo dominante [3], e adicionalmente quando avaliou-se os efeitos dos tratamentos nas novilhas classificadas como BAIXA P4 ($\leq 2,8$ ng/mL). Mesmo com concentrações de P4 abaixo de 2,8 ng/mL, que resultou em maior prenhez de acordo com a curva ROC, as novilhas nos Grupos 12 e 14 tiveram maior concepção em relação às novilhas no Grupo10 suportando a hipótese que a luteólise ocorreu antes nestes animais, corroborando estudos prévios em novilhas Nelore cíclicas em que a antecipação da PGF2 α foi relacionada à maior concepção [5, 6].

Esta antecipação da PGF2 α pode ser atribuída como um aumento no proestro, o que tem sido associado a maiores taxas de prenhez em vacas de corte *Bos taurus* [32] e vacas leiteiras [33, 34] sincronizadas com protocolos a base de GnRH, e em protocolos de IATF a base de E2/P4 em vacas leiteiras [35], vacas Nelore lactantes cíclicas [7], não lactantes [6] e novilhas [5].

Do ponto de vista prático, o início do protocolo de IATF 12 dias após o protocolo para indução da primeira ovulação resultou em maiores taxas de concepção e prenhez em novilhas Nelore pré-púberes. Indicando que com 12 dias de intervalo entre da indução da ovulação e IATF a aplicação de PGF2 α pode ser realizada juntamente com a retirada do dispositivo de P4. Estudos prévios demonstraram que em animais com CL durante o protocolo de IATF a antecipação da PGF2 α é associada a um melhor

desenvolvimento folicular e fertilidade [5, 6] e utilizando o intervalo de 12 dias proposto neste estudo, o manejo adicional para a aplicação de PGF2 α não se faz necessário.

Além disso, há uma indicação na literatura que as novilhas devem estar ciclando antes do início da estação de monta ou pelo menos serem inseminadas no terceiro estro após a puberdade para terem boas taxas de prenhez [16], entretanto não há na literatura comparação entre o segundo e terceiro estro. No presente estudo, as novilhas foram inseminadas utilizando a segunda ovulação pós-puberdade com boa taxa de prenhez, além de que novilhas pré-púberes induzidas à primeira ovulação em protocolos a base de P4 e inseminadas após detecção de estro tiveram a mesma concepção que novilhas previamente ciclando [13].

Iniciando o protocolo de IATF 12 dias após o protocolo de indução da primeira ovulação em novilhas Nelore pré-púberes resultou em maiores taxas de prenhez. Além disso, a concentração de P4 no final do protocolo de IATF influenciou a fertilidade. Como demonstrado por estudos prévios, estratégias que reduzam as concentrações de P4 ao final do protocolo e potencializam o crescimento folicular geralmente são associadas a maiores taxas de prenhez.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Pfizer Saúde Animal e ao CNPq e FAPESP pela concessão da bolsa de estudos.

5. Referências

- [1] Bó GA, Barusseli, PS, Martinez, MF, Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle, *Animal Reproduction Science*, v. 78, p. 307 - 326, 2003.
- [2] Gimenes LU, Sá Filho MF, Carvalho NAT, Torres-Júnior JRS, Souza AH, Madureira EH, et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:852-8.
- [3] Pfeifer LFM, Mapletoft RJ, Kastelic JP, Small JA, Adams GP, Dionello NJ, et al. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. *Theriogenology*. 2009;72:1237-50.

- [4] Carvalho JB, Carvalho NA, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*. 2008;69:167-75.
- [5] Dias CC, Wechsler FS, Day ML, Vasconcelos JL. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F(2alpha) treatment affect fertility in postpubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2009;72:378-85.
- [6] Peres RF, Claro I, Sá Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JL. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*. 2009;72:681-9.
- [7] Meneghetti M, Sá Filho OG, Peres RF, Lamb GC, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: basis for development of protocols. *Theriogenology*. 2009;72:179-89.
- [8] Sá Filho OG, Meneghetti M, Peres RF, Lamb GC, Vasconcelos JL. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology*. 2009;72:210-8.
- [9] Martins T, Peres RFG, Rodrigues ADP, Graff H, Carvalho ER, Pereira MHC, Vasconcelos JLM. Effect of progesterone, duration of proestrus and follicular diameter on the conception rate of timed-inseminated pubertal Nelore heifers. *Proceedings of the 26th Annual Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE)*. Foz do Iguaçu - PR: Animal Reproduction; 2012. p. 532.
- [10] Bridges GA, Mussard ML, Burke CR, Day ML. Influence of the length of proestrus on fertility and endocrine function in female cattle. *Anim Reprod Sci*. 2010;117:208-15.
- [11] Houghton P, Lemenager R, Moss G, Hendrix K. Prediction of postpartum beef cow body composition using weight to height ratio and visual body condition score. *Journal of animal science*. 1990;68:1428-37.
- [12] Rodrigues ADP, Peres RFG, Lemes AP, Martins T, Pereira MHC, Day ML, Vasconcelos J. Progesterone-based strategies to induce ovulation in prepubertal Nelore heifers. *Theriogenology*. 2013;79:135-41.
- [13] Júnior IC, Peres R, Aono F, Day M, Vasconcelos J. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. *Theriogenology*. 2010;74:903-11.

- [14] Alvarez P, Spicer L, Chase C, Payton M, Hamilton T, Stewart R, et al. Ovarian and endocrine characteristics during an estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. *Journal of animal science*. 2000;78:1291.
- [15] Cooke RF, Arthington JD, Austin BR, Yelich JV. Effects of acclimation to handling on performance, reproductive, and physiological responses of Brahman-crossbred heifers. *Journal of Animal Science*. 2009;87:3403-12.
- [16] Byerley DJ, Staigmiller RB, Berardinelli JG, Short RE. Pregnancy rates of beef heifers bred either on puberal or third estrus. *J Anim Sci*. 1987;65:645-50.
- [17] Sá Filho OG, Thatcher WW, Vasconcelos JL. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. *Anim Reprod Sci*. 2009;112:95-106.
- [18] Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 2007;85:684-9.
- [19] Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, et al. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2005;102:5268.
- [20] Vasconcelos JL, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*. 2001;56:307-14.
- [21] Geisert RD, Short EC, Zavy MT. Maternal recognition of pregnancy. *Animal Reproduction Science*. 1992;28:287-98.
- [22] Garrett JE, Geisert RD, Zavy MT, Morgan GL. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *J Reprod Fertil*. 1988;84:437-46.
- [23] Mann G, Lamming G. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 1999;34:269-74.
- [24] Mann GE, Lamming GE, Robinson RS, Wathes DC. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *J Reprod Fertil Suppl*. 1999;54:317-28.
- [25] Roberts RM, Xie S, Mathialagan N. Maternal recognition of pregnancy. *Biol Reprod*. 1996;54:294-302.

- [26] Hawk HW, Cooper BS. Improvement of Sperm Transport by the Administration of Estradiol to Estrous Ewes. *Journal of Animal Science*. 1975;41:1400-6.
- [27] Perry GA, Perry BL. Effects of standing estrus and supplemental estradiol on changes in uterine pH during a fixed-time artificial insemination protocol. *Journal of Animal Science*. 2008;86:2928-35.
- [28] Bridges G, Mussard M, Pate J, Ott T, Hansen T, Day M. Impact of preovulatory estradiol concentrations on conceptus development and uterine gene expression. *Animal Reproduction Science*. 2012.
- [29] Kinder JE, Kojima FN, Bergfeld EG, Wehrman ME, Fike KE. Progesterin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle. *Journal of Animal Science*. 1996;74:1424-40.
- [30] Stock AE, Fortune JE. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*. 1993;132:1108-14.
- [31] Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rates. *Theriogenology*, v. 56, p. 307 - 314, 2001. LH excesso
- [32] Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*. 2008;69:843-51.
- [33] Peters MW, Pursley JR. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology*. 2003;60:1197-204.
- [34] Ribeiro ES, Monteiro APA, Lima FS, Ayres H, Bisinotto RS, Favoreto M, et al. Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5-day timed artificial insemination protocol. *Journal of Dairy Science*. 2012;95:2513-22.
- [35] Pereira MHC, Rodrigues ADP, Carvalho ER, Sanches CP, Guzella TG, Veras MB, Vasconcelos JLM. Effect of proestrus length on fertility in dairy cows submitted to ovulation synchronization protocols based on E2/P4. *Proceedings of the 26th Annual*

Meeting of the Brazilian Embryo Technology Society (SBTE). Foz do Iguaçu - PR:
Animal Reproduction; 2012. p. 517.

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES GERAIS E IMPLICAÇÕES

Conclusões Gerais e Implicações

O objetivo da pecuária de corte é a produção de bezerros e dentro deste cenário é de extrema importância que as matrizes fiquem prenhes o quanto antes na estação de monta. Novilhas pré-púberes no início da estação de monta são um entrave a eficiência do sistema, pois não são cobertas pelo touro e nem inseminadas em observação de estro, e conseqüentemente atrasam em ficar gestantes.

O presente estudo demonstrou que é possível induzir a primeira ovulação em Novilhas Nelore pré-púberes, demonstrando que, quando feito dessa maneira, o primeiro cio do animal tem boa fertilidade. Entretanto quando utilizado apenas progesterona na indução, possivelmente as novilhas apresentam baixas concentrações de estradiol, o que levou a ocorrência de ovulações silenciosas. A adição da eCG ao protocolo aumentou a ovulação, sem alterar a manifestação de cio. O uso do ECP atuou em ambos, na ovulação e manifestação de cio quando utilizado em conjunto com a eCG.

Protocolos de IATF associados à indução da primeira ovulação podem ser uma nova alternativa nas fazendas de corte. Dados do presente estudo demonstraram que novilhas induzidas à primeira ovulação não apresentam redução na fertilidade. E o protocolo de IATF iniciado em momento estratégico (12 dias) permite facilitar a logística da fazenda, e mão de obra, eliminando a observação de cio com aceitáveis taxas de fertilidade.

Protocolos de indução da primeira ovulação em novilhas Nelore pré-púberes podem ser utilizados rotineiramente nas propriedades de cria, proporcionando um aumento no número de animais cíclicos e um expressivo aumento na taxa de prenhez no início da estação de monta, podendo ser associados ao protocolo de IATF de maneira estratégica, facilitando o manejo e incrementando a fertilidade das novilhas. Entretanto é necessário salientar que para se obter bons resultados se faz necessário que as novilhas estejam em um adequado manejo nutricional a fim de ter um bom peso corporal.

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

R696e Rodrigues, Adnan Darin Pereira, 1987-
Estratégias hormonais para aumentar a taxa de prenhez em novilhas nelore pré-púberes / Adnan Darin Pereira Rodrigues. - Botucatu : [s.n.], 2012
xiii, 66 f. : il., gráfs., tabs.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2012

Orientador: José Luiz Moraes Vasconcelos
Inclui bibliografia

1. Nelore (Zebu). 2. Novilha - Reprodução. 3. Ovulação - Indução. 4. Progesterona. 5. Puberdade. I. Vasconcelos, José Luiz Moraes. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.