

RONALDO LUIZ ERENO

AVALIAÇÃO DA TAXA DE PRENHEZ EM NOVILHAS TRATADAS COM PROTOCOLO GnRH-PGF₂ α -Benzoato de Estradiol (GPE) E EM VACAS SUBMETIDAS À TRATAMENTOS HORMONAIS COM PROGESTERONA ASSOCIADOS OU NÃO A REMOÇÃO TEMPORÁRIA DE BEZERROS.

Dissertação apresentada á Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Reprodução Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ciro Moraes Barros

**Botucatu - São Paulo
2003**

Tudo na vida depende de decisão inteligente e uma ação firme.

Von Schiller

AGRADECIMENTOS

A Deus.

Aos meus pais Antônio Adauto Ereno e Maria Luiza Lopes Ereno pelo exemplo de amor, respeito e pela liberdade que me proporcionaram na escolha de minha profissão.

Ao Professor Dr. Ciro Moraes Barros, pelos ensinamentos, pela orientação e paciência na execução deste trabalho.

A realização deste trabalho só foi possível graças à colaboração de muitas pessoas, dentre elas...

Ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da UNESP (Botucatu) pela oportunidade oferecida para a execução deste trabalho;

Aos Professores do Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária pelos ensinamentos transmitidos durante o curso de Pós-graduação;

À Prof^a. Dra. Luzia A. Trinca (Departamento de Estatística, IB), pela assessoria estatística;

Ao amigo Marcelo Figueira Pegorer, pelo auxílio em todos os experimentos;

Aos proprietários e funcionários das fazendas onde foram realizados os experimentos: Fazenda Rosalito (Santa Cruz do Rio Pardo-SP), Fazenda Roncador (Barra do Garças-MT) e Fazenda Palmeira da Serra (Pratânia-SP);

Aos companheiros do curso de pós graduação, pelas sugestões, amizade e colaboração, em especial à Luciana Takada;

A todos os orientados do prof.Ciro, pela ajuda dada durante o decorrer do curso;

Aos meus amigos Juliano T. Itimura e Marcela S. Ribeiro, pelo apoio;

Agradeço a todos vocês, e àqueles que não foram citados e que, de alguma forma, colaboraram nesta etapa de minha vida.

Ronaldo.

SUMÁRIO

Abreviaturas.....	01
Resumo.....	02
Introdução.....	05
Revisão da Literatura.....	07
Objetivos.....	24
Materiais e Métodos.....	25
Resultados.....	33
Discussão.....	39
Conclusões.....	46
Abstract.....	47
Referências Bibliográficas.....	50

Abreviaturas utilizadas neste texto

ABCZ – Associação Brasileira dos Criadores de Zebu
CE – Ciclo estral
BE – Benzoato de Estradiol
CIDR – *Controlled Internal Drug Release*
CL - Corpo Lúteo
CLG – Células lúteas grandes
CLP – Células lúteas pequenas
DIB – Dispositivo Intravaginal Bovino
E2 – Estradiol
eCG – Gonadotrofina coriônica eqüina.
FSH – Hormônio Folículo Estimulante
GnRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
IA – Inseminação Artificial
IATF – Inseminação Artificial em tempo fixo
IGF-I – Hormônio de crescimento semelhante a insulina tipo I
LH – Hormônio Luteinizante
MGA – Acetato de Melengestrol
PGF_{2α} - Prostaglandina F_{2α}
P4 – Progesterona
PIB – Produto Interno Bruto
PRID – *Progesterone Releasing Intravaginal Device*
RTB – Remoção Temporária de Bezerros
SMB – *SyncroMate B*
VE – Valerato de Estradiol

RESUMO

A curta duração do estro na raça Nelore (*Bos indicus*), dificulta a detecção do estro nos programas convencionais de inseminação artificial. A fim de contornar este problema, foram testados tratamentos hormonais para sincronizar a ovulação e permitir a IA com tempo fixo (IATF).

No experimento (Exp.) I, novilhas Nelore (n=222), foram distribuídas aleatoriamente em 3 grupos: Grupo GP (n=71), GPE (n=71) e PP-GPE (n=80). Os animais do Grupo GP foram tratados com um análogo do GnRH (50 µg de acetato de gonadorelina, via IM, Dia 0), seguido 7 dias mais tarde por PGF2α (150 µg de d-cloprostenol, Prolise®, via IM, Dia 7). Após a injeção de PGF2α, as novilhas do foram observados duas vezes ao dia para a detecção do cio e a IA foi realizada 12 horas mais tarde. No Grupo GPE as novilhas receberam uma injeção adicional de benzoato de estradiol (BE, 1,0 mg, Estrogin®, via IM) 24 h após a administração de PGF2α e foram inseminadas entre 30 e 36 h após a injeção de BE. Os animais do Grupo PP-GPE), foram pré sincronizados com 2 aplicações de PGF2α, com intervalo de 11 dias entre as mesmas. Onze dias após a segunda aplicação de PGF2α, as novilhas foram tratadas e IA de acordo com o protocolo GPE.

No Exp.II, Vacas Nelore (60 a 90 dias pós parto) foram distribuídas aleatoriamente em 4 grupos: Grupo Controle (n=82), Grupo CIDR/IATF (n=80), Grupo P4100mg (n=72) e Grupo P450/50mg (n=76). Os animais do Grupo Controle receberam um dispositivo intravaginal contendo progesterona (CIDR, 1,9 g de progesterona) e uma injeção de BE (2,5 mg, via IM, Dia 0). Nove dias mais removeu-se o CIDR e administrou-se PGF2α (150 µg, via IM, Dia 9). Após a injeção de PGF2α os animais foram observados duas vezes ao dia para detecção de cio e a IA foi realizada 12 horas mais tarde. Grupo CIDR/IATF (n=80), este tratamento foi similar ao grupo Controle, exceto que 24 horas após a retirada do CIDR e aplicação da PGF2α, todos os animais

receberam outra injeção de BE (1,0mg, via IM). Trinta a trinta e seis horas após a última aplicação de BE, todas as vacas foram IATF. Os animais dos Grupos P4100mg e P450/50mg, foram tratados de forma similar aos do Grupo CIDR/IATF, exceto que no lugar de receberem CIDR no Dia 0, os animais foram tratados com 100 mg de progesterona por via intramuscular (Grupo P4100mg) ou 50 mg via intramuscular e 50 mg via subcutânea (Grupo P450/50mg).

No Exp. III, vacas lactantes Nelore (n=83) e Mestiças (n=102), com 60 a 90 dias pós parto, foram divididas aleatoriamente em 3 grupos: Grupo Controle (n=25, 13 Nelores e 12 Mestiças), Grupo IATF (n=81, 34 Nelores e 47 Mestiças) e Grupo IATF/RTB (n=79, 36 Nelores e 43 Mestiças). Os tratamentos hormonais utilizados no Grupo Controle e no Grupo IATF foram idênticos aos descritos no Exp. II, exceto pelo fato de ser utilizar o DIB® (1g de progesterona) no lugar do CIDR®. Os animais do Grupo IATF/RTB (n=79, 36 Nelores e 43 Mestiças), receberam o mesmo tratamento hormonal que aqueles do Grupo IATF, entretanto, todos os bezerros foram removidos logo após a aplicação da PGF2 α (D9) e retornaram 54 horas mais tarde (D11).

O diagnóstico de gestação foi realizado, por meio de ultra-sonografia, 40 a 50 dias após a inseminação artificial (Exp.I, II e III).

No Exp.I, das 71 novilhas tratadas no grupo GP 45 manifestaram cio e 8 tornaram-se prenhas, resultando em baixas taxas de concepção (17,7%) e prenhez (11,25%). De forma similar, também foram observadas baixas taxas de prenhez após os tratamentos GPE(11,25%) e PP-GPE(7,46%). Boa parte dos animais que não engravidaram nos grupos GP(35%), GPE(42,2%) e PP-GPE(46,8%), apresentaram intervalo de retorno ao cio após a IA superior a 26 dias. Devido a este fato, escolheu-se aleatoriamente 20 novilhas entre os 3 grupos tratados para sorologia de Rinotraquíte Infecciosa Bovina (IBR) e 80% destes animais apresentaram resultado positivo.

No Exp.II, 7 vacas do Grupo Controle foram excluídas por apresentarem o CIDR no Dia 9. Dos 75 animais restantes, 58 (77,3%) manifestaram estro após a retirada do dispositivo intravaginal e 31 ficaram prenhas (41,3%). A taxa de prenhez no Grupo CIDR/FTAI (51,3%) foi semelhante as do Grupo Controle, porém significativamente maior do que as dos Grupos P4100mg (18,0 %) e P450/50mg (15,8%, p<0.01).

No Exp. III, devido ao fato de ter ocorrido interação entre raças e grupos experimentais, as taxas de prenhez foram analisadas separadamente para cada raça. Nas vacas Nelore, houve aumento significativo na taxa de prenhez no Grupo com remoção temporária de bezerros (Grupo IATF-RTB, 69,4%) quando comparado aos Grupos Controle (7,7%) e IATF (23,5%, $p < 0,01$). Entretanto, nas vacas Mestiças as taxas de prenhez não diferiram nos 3 grupos: Controle (41%), IATF (59,6%) e IATF-RTB (55,8%, $p > 0,1$).

Os resultados obtidos no Exp. 1 indicam que as baixas taxas de prenhez observadas em novilhas Nelore, provavelmente foram decorrentes da presença de IBR no rebanho. Portanto, novos experimentos precisam ser realizados a fim de avaliar a eficiência do protocolo GPE em novilhas.

Os protocolos com dispositivo intravaginal contendo progesterona mostraram-se eficazes em sincronizar a ovulação e originaram taxas de prenhez satisfatórias em vacas Nelore. Entretanto, a substituição do dispositivo intravaginal por aplicação intramuscular e/ou subcutânea de progesterona resultou em diminuição significativa nas taxas de prenhez.

A remoção temporária de bezerros pode melhorar a taxa de prenhez em animais submetidos a protocolos hormonais com dispositivo intravaginal contendo progesterona, como indicam os resultados obtidos em vacas Nelore (Exp. III).

Palavras-chave: *Bos indicus*, GnRH, Inseminação Artificial, Progesterona, Remoção de bezerros.

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

A população humana mundial tem se expandido em ritmo assustador, em particular nos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento. É pouco provável que a expansão da área agricultável do planeta seja superior a 1% ao ano. Por conseguinte, parece fora de dúvida que aumentar a produtividade agropecuária, representa a chave para solucionar o problema de desnutrição e inanição das futuras gerações nas próximas décadas (Peixoto; 1993).

A pecuária bovina brasileira tem importante contribuição na formação do PIB agropecuário (produto interno bruto) e é a principal fonte de alimentos de alto valor biológico, como a carne bovina. A contribuição do setor na estabilidade sócio-econômica do país é refletida quando se analisa a cadeia de produção da carne bovina em número de empregos gerados direta e/ou indiretamente nas regiões urbanas e/ou rurais, onde estão envolvidas, aproximadamente 7 milhões de pessoas, desde a produção até a comercialização final ao consumidor (IBEGE, 1996)

Devido a facilidade de adaptação ao clima tropical, (adaptabilidade e rusticidade), boa resistência aos endo e ectoparasitas, estrutura física que lhe proporciona facilidade de locomoção, além de excelente habilidade materna (facilidade de parto e proteção da cria) os zebuínos (*Bos taurus indicus*) predominam em muitos países do hemisfério sul e no Brasil (Santiago, 1995; Santos, 1995, Bó et al, 2003). Entre as raças de corte, a Nelore é a que possui o maior contingente numérico: 90 milhões de cabeças do total de 170 milhões que compõem o rebanho nacional, sendo considerada o alicerce da cadeia produtiva pecuária brasileira (Associação dos Criadores de Nelore do Brasil - ACNB, 2003).

De acordo com a ABCZ (Associação Brasileira dos Criadores de Zebu) apenas 4,6% do rebanho de corte e leite brasileiro são inseminados. A inseminação artificial (IA) é uma biotecnologia fundamental para o melhoramento genético do rebanho bovino. Entretanto, a detecção do cio, a que requer tempo e pessoal

adequadamente treinado, continua a ser um dos principais fatores limitantes para a ampla utilização da mesma (Macmillan, 1992).

Em fêmeas Nelore, a curta duração do estro (cerca de 11 horas), associada a alta incidência de cios noturnos (30-50%) dificulta a detecção do estro e prejudica a implantação de programas convencionais de IA (Barros et al, 1998 e Barros & Fernandes, 1998). Desta maneira, o desenvolvimento de protocolos que empregam técnicas de reprodução, onde se sincronize a ovulação e que permita a realização da IA sem observação de cio, ou seja, em tempo pré-determinado (fixo), colabora sobremaneira para a melhoria da eficácia desses programas, contribuindo para a otimização genética e produtiva do rebanho brasileiro.

O presente trabalho tem por objetivo testar a eficiência de protocolos hormonais para IATF, mais especificamente:

- avaliar a eficiência do protocolo GPE em novilhas da raça Nelore;
- avaliar a eficiência da administração da progesterona por meio de dispositivo intravaginal ou através de injeções intramusculares e/ou subcutânea, em protocolos para a IATF;
- avaliar a eficiência do tratamento hormonal com dispositivo intravaginal liberador de progesterona, associado ou não a remoção temporária de bezerras.

REVISÃO DE LITERATURA

Regulação Hormonal do Ciclo Estral

O ciclo estral (CE) é regulado por mecanismos endócrinos e neuro-endócrinos envolvendo, principalmente os hormônios hipotalâmicos (hormônio liberador de gonadotrofinas – GnRH), hipofisários (hormônio luteinizante – LH e hormônio folículo estimulante – FSH) e gonadais (estradiol – E2, progesterona – P4 e inibina).

O GnRH é um decapeptídeo sintetizado por células neuroendócrinas na área pré óptica do hipotálamo e após ser liberado sob a forma de pulsos (Clarke, 1988) atinge a adenohipófise através do sistema porta-hipotálamo-hipofisário, onde determina a secreção das gonadotrofinas LH e FSH, ambas são glicoproteínas constituídas de uma sub-unidade α comum e uma sub-unidade β distinta. Essas gonadotrofinas são liberadas de maneira pulsátil na circulação sistêmica e atua nas gônadas regulando a gametogênese e a secreção dos estrógenos gonadais (Stanislaus et al., 1998).

O LH, secretado pela adeno-hipófise, é regulado pela P4 e E2 ovarianos. Durante a maior parte do CE, ambos hormônios inibem a secreção de LH por meio de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário (Goodman & karsch, 1980; clarke, 1988; Price & Webb, 1988). O LH é liberado sob a forma de pulsos que variam em frequência e amplitude (Rahe et al., 1980; Wright & Malmo, 1992, Shupnik, 1996). Após a luteólise, a concentração sérica de P4 diminui a níveis inferiores a 1 ng/ml, o que permite o aumento na frequência dos pulsos de LH (Goodman & Karsh, 1980; Karsh, 1987; Wiltbank et al, 2002).

O aumento na frequência de pulsos de LH estimula a maturação do folículo dominante que passa a secretar quantidades crescentes de 17β -estradiol (Ireland & Roche, 1987; Fortune et al, 2001). O E2 na ausência de P4, estimula a síntese de receptores para GnRH na hipófise (Schoenemann et al., 1985) tornando-a

mais sensível ao GnRH (Kesner et al., 1981) ao mesmo tempo que aumenta a frequência e amplitude dos pulsos de GnRH (Hansel & Convey, 1983) e estimula a síntese de gonadotrofinas, o que resulta no pico LH (Hurnik, 1987) e consequentemente, na ovulação do folículo de Graaf (Clarke, 1988; Mukasa-Mugerwa, 1989, Cassar et al., 2002).

Foliculogênese e Dinâmica Folicular

A foliculogênese bovina é um processo contínuo de crescimento e atresia dos folículos ovarianos (Matton et al., 1981; Nilsson et al., 2001) que se inicia na vida fetal, passa pela puberdade (Evans et al., 1994) e continua na vida reprodutiva até a senilidade (Hafez, 1993).

Nos ovários de uma fêmea púbere podem ser encontrados os seguintes folículos: primordiais (repouso), que consistem de um oócito rodeado por uma camada de células somáticas (pré-granulosa) achatadas; folículos primários, quando a única camada de células da granulosa ao redor do oócito torna-se cuboidal; folículos secundários ou pré-antrais, apresentam duas ou mais camadas de células da granulosa desenvolvidas e o oócito entra numa fase de crescimento intensivo; folículos terciários ou antrais em maturação, caracterizado por uma cavidade repleta de líquido (fluido folicular) , o antro, dentro da multicamada da granulosa e o folículo pré ovulatório ou de Graaf (Van den Hurk & Zhao, 2003). O fluido folicular é um instrumento de suporte nutricional e desenvolvimento do ovócito, bem como um veículo no qual o ovócito é transportado para a tuba uterina durante a ovulação (Woolums & Peter, 1994). O fluido é rico em glicoproteínas, tais como inibina (inibe a secreção de FSH e o crescimento dos folículos subordinados (Rice, 1991; Ginther, 2000); a folistatina (suprime o crescimento folicular) e a activina (estimula a síntese e/ou liberação do FSH (Xião et al, 1992).

O processo contínuo de crescimento e regressão dos folículos, que leva ao desenvolvimento do folículo pré-ovulatório, é conhecido como dinâmica folicular, enquanto que o padrão de crescimento e atresia de um grupo de folículos ovarianos é denominado onda de crescimento folicular (Lucy et al, 1992).

A maioria dos animais de raças européias, apresentam durante o ciclo estral duas (Pierson & Ginther, 1988, Knopf et al., 1989; Ginther et al., 1989) ou três (Ireland & Roche, 1987; Savio et al., 1988; Sirois & Fortune, 1988) ondas de crescimento folicular e esporadicamente uma ou quatro ondas (Savio et al., 1988, Sirois & Fortune, 1988; Murphy et al., 1990). Em zebuínos (*Bos indicus*), há predominância de 2 ondas de crescimento em vacas Nelore (90%), enquanto que em novilhas Nelore a ocorrência de 3 ondas é mais freqüente (67%, Barros et al., 1995; Figueiredo et al., 1997). Cada onda folicular dura aproximadamente 10 dias, podendo variar entre 6 e 15 dias (Wiltbank et al., 1996).

FIGUEIREDO et al., (1997) verificaram que o diâmetro máximo dos folículos ovarianos, em raças zebuínas, como a Nelore, foi de 11 a 13 mm; e na raça Gir (Gambini et al., 1997) parece ser menor que os valores entre 15 a 20 mm observados em novilhas (Savio et al, 1988; Ginther et al., 1989; Knopf et al., 1989) e vacas de raças européias (Murphy et al., 1990; Taylor & Rajamahendram, 1991). Recentemente, Mizuta (2003) não encontrou diferenças entre o tamanho do folículo pré ovulatório em vacas Nelore (12,6 mm) quando comparado com vacas Angus (12,6 mm) e mestiças Angus x Nelore (13,0 mm). Viana et al. (2000) relataram que o diâmetro máximo alcançado pelo folículo dominante em bovinos da raça Gir foi de $13,25 \pm 0,96$ mm.

O desenvolvimento folicular na espécie bovina envolve o recrutamento de um grupo de folículos primordiais para iniciar o crescimento (fase de recrutamento). Dentre estes, um folículo é selecionado, não sofre atresia e potencialmente pode ovular (fase de seleção). O folículo selecionado passa a exercer dominância sobre os demais folículos, suprimindo o crescimento dos mesmos e inibindo o recrutamento de um novo grupo de folículos (fase de dominância, Hodgen, 1982; Ireland & Roche, 1987; Ginther et al., 1989 e 1996; Sirois & Fortune, 1990). Na presença de altas concentrações plasmáticas de progesterona, há decréscimo na frequência de pulsos de LH (Roberson

et al., 1989). Consequentemente, o folículo dominante falha em ovular, perde a dominância e sofre atresia (Ginther et al., 1989; Lucy et al., 1992; Stock & Fortune, 1993). Desta forma, é somente por ocasião da luteólise, quando as condições hormonais são favoráveis ($P4 < 1 \text{ ng/ml}$) que o folículo dominante poderá ovular.

Os folículos são recrutados em grupos após um aumento nas concentrações plasmáticas de FSH que precede as ondas de crescimento folicular (Adams et al., 1992; Fortune, 1994). As concentrações de FSH são primariamente reguladas por dois componentes de origem ovariana, a inibina e o estradiol (Wright & Malmo, 1992; Wiltbank et al., 1996). A inibina parece ser secretada por todos os folículos maiores que 3 mm de diâmetro, incluindo muitos folículos atresícos. Por outro lado, as concentrações de estradiol aumentam paralelamente ao crescimento do folículo dominante, que é responsável por 80% do estradiol e 50% da inibina secretada na circulação, neste momento (Campbell et al., 1990a, Wiltbank et al., 1996).

A produção de estradiol pelo folículo ovariano requer a interação entre as células da teca e da granulosa e as gonadotrofinas hipofisárias (Austin & Short, 1984; Wiltbank et al., 1996). O LH estimula a enzima P450_{scc} a transformar o colesterol em andrógenos no interior das células da teca interna. A enzima aromatase, sob estímulo de FSH, converte os andrógenos em estrógenos nas células da granulosa (Knight, 1996).

Antes da divergência, o folículo dominante em fase de crescimento, produz quantidades crescentes de estradiol sob influencia do FSH. Este aumento nos níveis de E₂, suprime a secreção de FSH por mecanismos de retroalimentação negativa sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário. Durante a divergência, o folículo dominante adquire receptores para LH, que mantém o crescimento e maturação folicular, enquanto que os folículos subordinados sofrem atresia por não possuírem esses receptores (Ginther et al., 1996; Beg et al., 2000)

Ciclo estral

O CE compreende os eventos reprodutivos que ocorrem entre dois períodos de receptividade sexual (cio). As fêmeas bovinas domésticas são poliéstricas, apresentando estro com intervalos regulares de 21 dias, até que a prenhez tenha se estabelecido com sucesso. As raças indianas, apresentam ciclo estral com variação entre 17 a 24 dias (Mukasa-Murgewa, 1989; Galina & Arthur, 1990; Pinheiro et al., 1998).

Regressão Luteal

Nos bovinos e ovinos a lise do corpo lúteo (luteólise) é causada pela liberação de $\text{PGF2}\alpha$ proveniente do endométrio uterino (Horton & Poyser, 1975). Durante este processo ocorrem dois eventos associados: primeiro é a perda da capacidade de sintetizar P4 ; seguido pela perda das células que constituem o corpo lúteo (McGuire et al., 1994). O sinal hormonal que inicia a liberação de $\text{PGF2}\alpha$ em quantidades luteolíticas é o E2 proveniente do folículo pré ovulatório. O E2 estimula a síntese de receptores de ocitocina no endométrio, e a ocitocina proveniente do corpo lúteo e neuro-hipófise (McCracken et al., 1996), estimula a liberação de pequenas quantidades de $\text{PGF2}\alpha$ uterina (Fairclough et al., 1980). A $\text{PGF2}\alpha$ é secretada de forma pulsátil pelo endométrio durante o período da luteólise (Shemesh & Hansel, 1975) e atinge o CL ipsolateral por difusão da veia uterina para a artéria ovariana através de um mecanismo de contra corrente (Ginther & Del Campos, 1974; Hixon & Hansel, 1974; Ginther, 1974; Ginther, 1981).

Experimentos realizados tanto *in vivo* quanto *in vitro* demonstraram que a administração de $\text{PGF2}\alpha$ promove vários efeitos: decréscimo no fluxo sanguíneo (Nett

et al., 1976;), alterações na atividade das enzimas esteroidogênicas (Caffrey et al., 1979; Rao et al., 1984), alterações na conformação da cromatina nuclear (Chegini et al., 1991), diminuição no número de células lúteas pequenas (CLP, Braden et al., 1988), liberação da ocitocina luteal (Flint & Sheldrick, 1982), decréscimo da prostaciclina luteal (Milvae & Hansel, 1983), ativação do sistema fosfolipase C, aumento do inositol trifosfato e do cálcio intracelular (Davis et al., 1988; Duncam & Davis, 1991) e alterações na atividade da proteína Kinase C (Orwig et al., 1994).

As células lúteas grandes (CLG) possuem maior número de receptores de alta afinidade para a $\text{PGF2}\alpha$ em sua membrana plasmática que as CLP (Powell et al., 1976; Wiltbank et al., 1995). A observação de DAVIS et al., (1988), que a $\text{PGF2}\alpha$ aumenta a atividade da enzima fosfolipase C tanto nas CLP quanto nas CLG sugere que as CLP podem ter receptores suficientes para responder à $\text{PGF2}\alpha$ (Rodgers, 1990). Estudos recentes têm demonstrado que o RNAm para receptores de $\text{PGF2}\alpha$ aumenta progressivamente do início para o final do CE, e está marcadamente reduzido durante a luteólise (Sakamoto et al., 1995). Entretanto, WILTBANK et al. (1996), relataram que não houve diferença significativa na concentração de receptores para $\text{PGF2}\alpha$ ou na sua afinidade durante o ciclo estral.

Fase Folicular

A fase folicular inicia-se com a luteólise, na qual as concentrações de P4 caem abruptamente a níveis menores que 1 ng/ml, permitindo o aumento da frequência dos pulsos de LH, que por sua vez estimulam o desenvolvimento do folículo dominante. Este folículo completa seu crescimento e produz altas quantidades de E2 , que induzirá o comportamento do cio e provocará o pico pré-ovulatório de LH (Bó, 2000).

O cio é caracterizado pelo desejo sexual em que a fêmea permite ser montada (Blockey, 1980; Esslemont et al., 1980). Entretanto, existem outros sinais

como vulva edemaciada, mucosa vaginal hiperêmica, descarga de muco vaginal claro e elástico, inserção da cauda arrepiada, inquietude, formação de grupos, perda de apetite e queda na produção de leite, que auxiliam na identificação do animal em cio (Gonçalves et al., 2001). A simples observação diária do comportamento sexual de vacas e novilhas permite a identificação do cio, entretanto, a frequência (2 a 4 vezes ao dia) e o tempo (15 a 60 minutos) despendido nesta observação influenciam na acurácia da detecção do cio (Vaca et al., 1985).

Diversos recursos podem auxiliar na identificação da fêmea bovina em cio, tais como o uso de tinta na cauda das fêmeas (MacMillan & Henderson, 1984) e rufiões (machos deferentectomizados ou com desvio lateral de pênis e prepúcio) equipados com buçal marcador (Mukasa-Mugerwa, 1989). Além disso pode se utilizar câmaras de vídeo, pedômetros eletrônicos (Senger, 1994) e a radiotelemetria (Stevensom et al., 1996) na qual um dispositivo sensível à pressão, colocado na garupa da fêmea, origina impulsos eletrônicos. Estes impulsos são transmitidos a um computador que registra a atividade de monta de cada animal.

Nas raças européias (*Bos taurus*) o cio dura de 16 a 18 horas e a ovulação, em média, entre 28 e 31 horas após o início do cio. (Escobedo et al., 1989; Galina & Arthur, 1990; Stock & Fortune, 1993), ou seja, entre 10 e 12 horas após o final do cio (Hansel & Echtenkamp, 1972; Wishart, 1972; Hunter & Wilmut, 1984). Por outro lado, em zebuínos, a receptividade sexual é, em média, de apenas 11 horas (Mukasa-Mugerwa, 1989; Galina & Fortune, 1990; Pinheiro et al., 1998), podendo variar de 1,3 a 20 horas (Mukasa-Mugerwa, 1989; Galina & Arthur, 1990). PINHEIRO et al. (1998), utilizando a técnica de ultra-sonografia, verificaram que o intervalo entre o início do cio e a ovulação era de $26,6 \pm 0,44$ horas e a duração do cio de aproximadamente 11 horas em vacas Nelore, com estro natural ou induzido por tratamentos hormonais. Adicionalmente, observaram que 54% dos animais iniciavam o cio durante o período noturno (entre 18:00 e 6:00 horas) e dentre estes, 35% iniciaram e terminaram o cio durante a noite.

Fase Lútea

A fase lútea é caracterizada por um ovário contendo um corpo lúteo (CL), que resultou do rompimento do folículo ovulatório (Gonçalves et al., 2001). O CL é uma glândula endócrina transiente, o qual o produto secretado primário, a P4 é o elemento chave para muitos processos reprodutivos incluindo a ovulação, o comprimento do CE e manutenção da prenhez (Webb et al., 2002).

O folículo contém uma camada avascular de células da granulosa envolvidas por uma membrana basal, uma camada de células da teca interna e outra da teca externa. A ovulação nos mamíferos é similar ao processo inflamatório e ocorre durante os primeiros estágios do processo de luteinização que é iniciado pelo pico pré-ovulatório de LH (Gonçalves et al., 2001). Durante este processo a membrana basal do folículo se rompe e o oócito, junto com o fluído folicular são eliminados criando uma cavidade para o desenvolvimento do CL a partir de células da teca e da granulosa que invadem a cavidade folicular, onde crescem (hipertrofia) e se dividem (hiperplasia) formando as CLP e as CLG, respectivamente (Milvae et al., 1996). Esta transformação das células da teca interna e da granulosa é referida como luteinização e representa o estágio final de desenvolvimento destas células. A proliferação das células no desenvolvimento do CL, é muito rápida, podendo ser, este crescimento, comparado ao que ocorre em tumor (Du Mesnil, 1993). Este crescimento pode estar sob influência de fatores angiogênicos e mitogênicos, podendo se incluir fatores de crescimento fibroblasto, fator de crescimento semelhante a insulina tipo I (IGF-I), fator de crescimento endotelial vascular (Suh et al., 1992; Juengel et al., 1997). Para explicar o quão rápido é este crescimento, basta-se saber que na vaca o CL no dia 3 depois da ovulação pesa, aproximadamente 640 mg, porém no dia 14 do CE, seu peso é de aproximadamente 5,1 gramas (Einer & MacCracken, 1981).

Nos bovinos, as CLP têm menos que 20 μm e as CLG 20-30 μm . Há evidências que algumas CLP podem se transformar em CLG num CL maturo (Farin et al., 1986). As CLG produzem mais P4 por célula que as CLP, porém as CLP possuem maior quantidade de receptores para LH e por isto, respondem mais intensivamente ao

LH na secreção de P4 que as CLG (Fitz et al., 1982). Além disso, as CLG produzem ocitocina, a qual tem um papel importante na luteólise dos ruminantes (Wathes et al., 1983 e 1984; Fields et al., 1985 e 1992).

Na fase luteínica o CL produz progesterona em quantidades crescentes do 4º ao 10º dia do CE, e a secreção se mantém estável até que ocorra a luteólise, em torno do 15º ao 20º dia (Luque et al., 1983, Hafez, 1993).

Sincronização do Estro

A sincronização do estro, é uma biotécnica reprodutiva, que através da utilização de tratamentos hormonais, permite que um maior número de fêmeas entrem no cio, num determinado período de tempo, possibilitando a concentração da inseminação artificial e da parição em épocas desejáveis dentro dos sistemas de produção (Evans & Maxwell, 1987; Odde, 1990).

O uso da progesterona na sincronização do estro, data do ano de 1948, quando CHRISTIAN & CASIDA, demonstraram a supressão do estro em bovinos e controle da ovulação com tratamentos onde se utilizou progesterona exógena. Na década de 60, alguns trabalhos demonstraram a eficácia, na regulação do ciclo estral obtida com várias injeções diárias de progesterona, num total de até 20 dias. Estes tratamentos resultavam em altas taxas de sincronização do estro, no entanto apresentavam baixa fertilidade, além de sua pouca praticidade, decorrente das aplicações diárias do hormônio. (Hansel, 1965; Macmillan & Peterson, 1993). Em 1962, o acetato de melengestrol (MGA), um progestágeno administrado por via oral, foi introduzido no intuito de sincronizar o estro dos animais tratados (Patterson et al., 1990). Os animais recebem uma dosagem de 0,5 a 1,0 mg /animal/ dia, administrado na ração ou sal mineral, por período superior a 14 dias (Zimbelmann et al., 1970; Rajamahendram & Taylor, 1991; Wright & Malmo, 1992), o estro ocorre dentro de 6 dias

após o tratamento em aproximadamente 70% dos animais, porém a taxa de concepção geralmente é reduzida em 30% (Beal, 1996). Tratamentos com progestágenos por períodos prolongados, sincronizam o estro com precisão, porém as inseminações artificiais após o estro sincronizado, resultaram em baixa taxa de prenhez (Wishart, 1972; Gordon, 1976; Beal, 1996).

Por mais de 30 anos, estudos têm sido realizados para avaliar diferentes tratamentos com progesterona / progestágenos em vários protocolos de sincronização do estro (Bó et al., 2003). O uso de estradiol em combinação com tratamentos onde se utilizou progestágeno foi realizado em 1961 por WILTBANK et al. Esta combinação resultou no produto comercial conhecido como SyncroMate B (SMB), que consiste de um implante contendo 6 mg de norgestomet, mantido por 9 dias, associado à uma injeção intramuscular de valerato de estradiol (VE, 5mg) e norgestomet (3 mg) no dia da colocação do implante (Wiltbank & Gonzales-Padilla, 1975; Rathbone et al., 1998). O E2 é usado como agente luteolítico indireto e o progestágeno para prevenir a ovulação se o tratamento for iniciado no final do CE (Wishart & Young, 1974). A injeção intramuscular de norgestomet permite que as concentrações plasmáticas de P4 alcancem picos de 1,5 ng/ml dentro de uma hora; e dentro de 2 dias após o implante as concentrações permanecem constantes (Rathbone et al., 1998). O SMB induz o cio em 77 a 100% dos animais tratados, sendo que as taxas superiores a 90% são encontradas na maioria dos trabalhos publicados (Odde, 1990). Entretanto, a taxa de concepção do estro induzido pelo SMB varia muito (33 a 60%, Odde, 1990; 14 a 60%, Klesler & Favero, 1996), sendo influenciada pelo dia do ciclo estral em que o tratamento é iniciado (Odde, 1990, Beal, 1996) e pela condição corporal dos animais (Dunn, 1980). O valerato de estradiol, à semelhança da PGF2 α , não é capaz de promover luteólise nos primeiros cinco dias do CE (Wiltbank et al., 1996).

Outro produto comercial que surgiu a base de norgestomet é o Crestar. As diferenças entre o Crestar e o SMB são relativas ao material do implante (silicone vs. Hidrônico) e a quantidade de norgestomet (3 mg vs. 6 mg, Kastelic et al., 1997, Rathbone, 1998). No implante de silicone a liberação é constante e linear, enquanto que a secreção pelo implante hidrônico é, inicialmente, muito rápida (primeiro dois dias) e depois muito lenta (Klesler et al., 1995; Rathbone et al., 1998). Em vacas *Bos indicus*,

sincronizadas com implantes auriculares, obteve-se resultados de prenhez satisfatórios, porém o mesmo não se repetiu em novilhas (McGowan, 1999), possivelmente, devido as altas concentrações sanguíneas de estradiol, durante o tratamento com o VE (Cavalieri et al., 1997). Devido a alta incidência de animais que apresentam cio não ovulatório com tratamentos onde se emprega o VE (Williams et al, 2002), uma opção para melhorar a taxa de prenhez é administrar gonadotrofina coriônica eqüina (eCG) no momento da remoção do implante, a fim de estimular o crescimento folicular e sincronia do estro (Cavalieri et al., 1997; Bó et al, 2002b).

Além do SMB e do Crestar, há três dispositivos intravaginais liberadores de P4 denominados CIDR (“Controlled Internal Drug Release”, 1,9 g de P4, Macmillan et al., 1993), PRID (“Progesterone Realising Intravaginal Device”, 1,55g de P4, Chenault, 1992) e mais recentemente lançado no mercado nacional o DIB (“Dispositivo Intravaginal Bovino”, 1 g de P4). Inicialmente, o CIDR vinha acoplado com uma cápsula de gelatina contendo benzoato de estradiol (BE, 10 mg), que era inserida junto com o dispositivo, no intuito de induzir a luteólise e recrutamento de uma nova onda folicular (Macmillan & Peterson, 1993), porém trabalhos subsequentes demonstraram que a administração do BE por via intramuscular resultou em melhor sincronia na emergência de ondas de crescimento folicular (Bó et al., 2003).

A partir da comprovação dos efeitos luteolíticos da $\text{PGF2}\alpha$ em bovinos por ROWSON et al. (1972), vários análogos sintéticos desta luteolisina foram comercializados e amplamente utilizados para controlar o CE (Inskeep, 1973, Thatcher & Chenault, 1976, Odde, 1990, Larson & Ball, 1992, Beal, 1996). A $\text{PGF2}\alpha$ pode ser utilizada em dose única, porém requer identificação prévia do corpo lúteo. O CL é responsivo a $\text{PGF2}\alpha$ entre o 5º e 16º do CE. A fim de evitar a fase inicial do CE, duas doses podem ser administrada com intervalo de 11-14 dias, obtendo-se assim melhores taxas de manifestação do cio após a segunda dose (Lauderdale et al., 1981; Odde, 1990; Chenault, 1992; Beal, 1996).

Uma das limitações da utilização de $\text{PGF2}\alpha$ é a baixa taxa de sincronização na indução do cio (Tanabe & Hann, 1984). O tempo entre a aplicação da $\text{PGF2}\alpha$ e da manifestação do estro em bovinos pode variar por um período de até 6 dias, devido não somente a resposividade do CL a este hormônio, mas também pelo

estágio do desenvolvimento folicular no momento da aplicação da $\text{PGF2}\alpha$ (Bó et al., 2003). Por exemplo, a injeção de $\text{PGF2}\alpha$ quando existe um folículo dominante permite rápida maturação e ovulação do mesmo, enquanto que após a administração no início de nova onda folicular serão necessários 3 a 5 dias para que ocorra seleção e maturação de um novo folículo dominante, resultando num intervalo maior entre o tratamento e a ovulação.

Em animais *Bos indicus*, mesmo se confirmando a presença de CL no momento da aplicação de $\text{PGF2}\alpha$, o número de animais que respondeu ao tratamento (manifestaram estro) foi 30% menor do que os resultados encontrados com *Bos taurus* (Galina & Arthur, 1990). Em vacas da raça Nelore (Figueiredo et al., 1997; Castilho et al., 1997b) e Gir (Gambini et al., 1997) foi observado baixa manifestação de estro (<50%) após tratamentos com $\text{PGF2}\alpha$, mesmo na presença de corpo lúteo funcional (Pinheiro et al., 1998). Entretanto, outros trabalhos realizados em raças zebuínas tem mostrado desde baixa (<40%, Hardin et al., 1980; Landivar et al., 1985) até elevadas taxas de manifestação de cio (>70%, Basile & Benedito, 1980, Lopez-Barbella et al., 1981, Oyedipe et al., 1986) após a administração de prostaglandina.

A $\text{PGF2}\alpha$ pode ser utilizada em combinação com progestágenos afim de promover melhor sincronização do estro, especialmente se for administrada entre 24 e 48 horas antes da retirada do progestágeno (Smith et al., 1984, Odde, 1990; Macmillan & Peterson, 1993; Macmillan et al., 1995, Beal, 1996, Kastelic et al., 1997, Madureira et al., 1997. Segundo SCHMITT et al.(1996) é possível que o aumento da secreção pelsátil de LH, durante o período entre a luteólise induzida pela $\text{PGF2}\alpha$ exógena e a remoção do progestágeno, permite um crescimento mais uniforme do folículo pré ovulatório nos animais.

Sincronização da Ovulação

No final da década de oitenta, quando o advento da ultra-sonografia permitiu a caracterização do desenvolvimento folicular bovino, THATCHER et al. (1989) e Macmillan & Thatcher (1991), utilizaram um análogo do GnRH para alterar a dinâmica folicular e forneceram a base para o desenvolvimento de um novo sistema de sincronização da ovulação.

BROWN & REEVES, (1983) e IRELAND et al. (1990) demonstraram a ausência de receptores para GnRH no ovário bovino. Posteriormente descobriu-se que o GnRH e seus análogos agem indiretamente induzindo a liberação de LH e FSH que promovem o desenvolvimento dos folículos ovarianos e do corpo lúteo (Conn & Crowley, 1990). A administração do GnRH aumenta os níveis plasmáticos de LH e FSH dentro 2 a 4 horas (Chenault et al., 1990; Rettmer et al., 1992; Stevenson et al., 1993).

Quando administrado em estágios aleatórios do ciclo estral, o GnRH causa a ovulação do folículo dominante e induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular dentro de 2 a 3 dias após o tratamento (Thatcher et al., 1989; Guilbault et al., 1990; Macmillan & Thatcher, 1991; Twagiramungu et al., 1994; Pursley et al., 1995; Beal, 1996; Kastelic & Mapletoft, 1998; Barros et al., 2000). Assim os animais apresentam homogeneidade no estágio de desenvolvimento dos folículos ovarianos no momento da indução da luteólise. Consequentemente, a precisão na determinação do cio (Twagiramungu et al., 1992a.b.; Thatcher et al., 1993) e a sincronização do pico de LH entre os animais são melhorados significativamente.

Vários trabalhos têm indicado que a administração de GnRH seguida 6 ou 7 dias após pela injeção de $\text{PGF2}\alpha$ é um sistema eficaz para a sincronização do cio e resulta em boa fertilidade (taxa de concepção entre 65 e 85%, Guilbault et al., 1991; Twagiramungu et al., 1992b, Thatcher et al., 1993, Wolfenson et al., 1994).

A administração de uma segunda dose de GnRH 1,5 a 2 dias após a $\text{PGF2}\alpha$ sincroniza o momento da ovulação e as vacas podem ser inseminadas com horário predeterminado (Pursley et al., 1995; Twagiramungu et al., 1995; Burke et al., 1996, Barros et al., 2000). O GnRH injetado 24 ou 48 horas após a $\text{PGF2}\alpha$ concentra as ovulações entre 24 e 32 horas após o GnRH, o que permite a realização da IA com tempo fixo (IATF) cerca de 20 horas após a segunda dose de GnRH (Pursley et al., 1994, 1995, 1997ab; Wiltbank et al., 1996; Burke et al., 1996).

BARROS et al. (2000) propuseram um protocolo mais barato, em relação ao Ovsynch, denominado GPE, onde a segunda injeção de GnRH é substituída por benzoato de estradiol (1 mg). A inseminação artificial em tempo fixo é realizada 30-34 horas após o benzoato de estradiol, com a ovulação ocorrendo $45,4 \pm 2$ horas após o BE. Em vacas Nelore com 60-90 dias pós parto, ciclando, Fernandes et al.(2001), obtiveram 43,3% de prenhez, porém em vacas em anestro, os resultados foram inferiores, atingindo 14,7% de prenhez.

Os progestágenos, associados a outros hormônios, são os esteróides mais comumente utilizados para a sincronização da ovulação de animais em anestro. Na maioria dos casos, o anestro, é consequência de uma série de folículos dominantes que falham em ovular devido á baixa concentração de LH, que não estimula a síntese de estradiol pelas células da granulosa do folículo ovariano em quantidades suficientes para induzir o estro e o pico pré-ovulatório de LH (Roche et al., 1992; Jolly et al., 1995; Yavas & Walton, 2000; Hernández et al., 2002).

A administração de estradiol ou de GnRH pode induzir um pico de LH, mas a ovulação seguida da formação de um corpo lúteo com vida normal pode não ocorrer a menos que o pico de LH seja precedido por uma fase luteal normal ou por tratamento com algum progestágeno por um período mínimo de 7 dias (Crowe et al., 1993). Tratamentos envolvendo única (Fonseca et al., 1980; Kesler et al., 1980) ou múltiplas injeções de GnRH (Edwards et al., 1983; Short et al., 1990) associados a implantes de norgestomet (Ramirez-Godinez et al., 1981; Smith et al., 1987, Troxel et al., 1993) ou algum dispositivo intravaginal contendo P4 (Macmillan et al., 1991, Fike et al., 1997; Xu & Burton, 1997), com ou sem remoção temporária da amamentação, podem ser usados para induzir a ovulação em vacas lactantes. O progestágeno é utilizado com o objetivo de mimetizar o ciclo estral curto que normalmente ocorre após a primeira ovulação pós parto ou na puberdade (Gonzalez-Padilha et al., 1975) e o GnRH promove antecipação e maior precisão no momento da ovulação quando administrado cerca de 30 horas após a retirada da P4 exógena (Troxel et al., 1993; Kesler & Favero, 1996; Wiltbank et al., 1996).

Remoção Temporária de Bezerros

Na fase final da gestação o eixo hipotalâmico-hipofisário está sob efeito de retroalimentação negativa dos esteróides placentar e ovariano, estrógeno e progesterona, suprimindo a liberação das gonadotrofinas, FSH e LH (Nett et al., 1988; Yavas & Walton, 2000) inibindo, portanto, a atividade folicular (Labhsetwar et al., 1964). A queda nas concentrações de P4 (Stabenfeldt et al., 1970) e estrógeno (placentar, Sasser et al., 1979) após a parição, permite que os níveis de FSH tenham um aumento dramático, ocasionando a emergência da primeira onda de crescimento folicular, que acontece por volta 2-7 dias do pós parto (Wiltbank et al., 2002). Porém a ovulação do folículo dominante somente ocorre quando este está exposto a uma frequência adequada da pulsatilidade de LH (1 pulso/hora), o que permite seu crescimento e produção adequada de estrógeno, provocando o pico pré ovulatório de LH (Bó et al., 2003). A retomada da pulsatilidade de LH em vacas de corte é mais prolongada (25 a 32 dias, Webb et al., 1980) em relação a vacas leiteiras (Peters et al., 1981).

O anestro pós parto está intimamente relacionado com o estímulo da mamada, e quanto maior a intensidade do estímulo, maior o intervalo de anestro (Bellows & Short, 1994). A falha primária que resulta no estabelecimento do estado anovulatório durante o pós parto em vacas de corte que amamentam, é a não retomada do padrão de secreção pulsátil de LH, que dará suporte ao desenvolvimento final e maturação do folículo pré ovulatório (Willians & Griffth, 1995). A ausência da pulsatilidade de LH é provocada pela inibição dos pulsos de GnRH pelo hipotálamo, devido a um aumento do efeito da retroalimentação negativa pelos estrógenos ovarianos nesta glândula (Walters et al., 1982; Wiltbank et al., 2002).

A ausência da pulsatilidade de LH no início da parição (primeiro 30 dias) não é dependente do estímulo da mamada e sim pela depleção nas concentrações dessa gonadotrofina na hipófise anterior (Nett et al., 1987). Após restabelecidos esses estoques na pituitária anterior, tanto o desmame completo, como o desmame temporário (48 ou 96 horas) e/ou desmame parcial (restringindo a mamada uma a duas

vezes ao dia) aumentam a freqüência dos pulsos de LH (Dunlap et al., 1981, Shively & Williams, 1989) seguido pelo aumento de receptores foliculares para LH e FSH (Walters et al., 1982) e posteriormente a ovulação induzida pelo pico de LH (Zollers et al., 1991).

A duração do ato da mamada (2 a 5 minutos/hora) bem como sua freqüência (1,25 a 2,6/6 horas) não mudam no decorrer do período pós parto até a desmama, sugerindo que a retomada da ciclicidade neste período não está relacionada com a diminuição dos intervalos e intensidade da amamentação (Yavas & Walton, 2000b) e sim pela diminuição da sensibilidade do efeito de retroalimentação negativa provocado pelo estrógeno ovariano no hipotálamo (Walters et al., 1982; Wiltbank et al., 2002).

Além do ato da mamada, a própria presença física do bezerro junto à sua mãe também cria um complexo de mensagens metabólicas, neurais (tanto visuais quanto olfatórias) e psicológicas. Esta combinação de mensagens faz com que ocorra diminuição na freqüência de liberação de GnRH pelo hipotálamo. Estudos realizados por WILLIAMS (1993) com vacas cuja inervação do úbere foi cirurgicamente destruída mostram que a mensagem neural direta transmitida do úbere durante a mamada, não é necessária para o desencadeamento do processo. Este autor demonstrou em seus experimentos que o desencadeamento da inibição da atividade ovariana necessita do contato e reconhecimento do seu próprio bezerro pela vaca, o que ocorre principalmente pela visão e o olfato.

A supressão dos pulsos de GnRH pelo hipotálamo também tem sido atribuída a liberação de opióides endógenos, desencadeada durante o processo de amamentação (Nett, 1987; Williams, 1990). As endorfinas originárias do cérebro podem modular a supressão da pulsatilidade de LH, associada a amamentação, pois PECK et al., (1988), demonstraram que a injeção de morfina (opióide agonista) 36 horas depois da remoção dos bezerros, diminuiu a freqüência dos pulsos de LH em vacas de corte. Connor et al., (1990), demonstraram que a remoção dos bezerros por um período de 48 horas no 30º dia pós parto, diminui a concentração de β -endorfina no hipotálamo, em vacas de corte. A inibição na liberação de LH provocada pelos opióides endógenos é diminuída com o avanço do período pós parto (Whisnant et al., 1986).

Wagner & Li (1982) propuseram que o aumento das concentrações circulantes de glucorticóides (estão em níveis aumentados na lactogênese e galactopoiese) estariam associadas na inibição da pulsatilidade de LH. Porém outros estudos têm relatao observações contraditórias, indicando que os glucorticóides, bem como a prolactina, que também é liberada durante a amamentação não estão envolvidos no processo de inibição da pulsatilidade de LH (Yavas & Walton, 2000b).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizadas novilhas virgens e vacas paridas 60-90 dias pós parto, da raça Nelore, em boas condições corporais, com índice de escore corporal entre 2,5-3,5 (escala 1-5, Lowman et al. 1976).

Os experimentos foram realizados em propriedades particulares, nos municípios de Santa Cruz Rio Pardo-SP (Fazenda Rosalito- Experimento I), de Barra do Garças-MT (Fazenda Roncador- Experimento II) e município de Pratânia-SP (Fazenda Palmeira da Serra- Experimento III). Os animais destes experimentos foram mantidos em pastagens de *Brachiaria brizantha* com suplementação mineral fornecida “ad libitum” em cochos próprios e cobertos.

O sêmen dos touros utilizados nos experimentos (Exp) I (Simental, n=4) e III (Nelore, n=3) nas inseminações artificiais dos grupos experimentais, foram previamente examinados e aprovados quanto as suas características físicas e morfológicas (motilidade pós-descogelamento, vigor e patologias espermáticas) pelo Departamento de Reprodução Animal da FMVZ da Unesp de Botucatu, segundo as normas descritas na portaria número 26 de 05/09/1996 do Ministério da Agricultura e Abastecimento e Reforma Agrária (MAARA). O sêmen dos quatro touros foram igualmente distribuídos entre os três grupos experimentais. O sêmen dos touros utilizados no experimento II (Nelore, n=12) foram analisados por uma clínica veterinária particular (Cliveco) no município de Barra do Garças, atento as mesmas exigências da portaria acima citada, e os touros foram utilizados conforme acasalamento determinado pela ABCZ.

A performance reprodutiva foi avaliada por meio da taxa de concepção (número de fêmeas prenhes em relação ao número de inseminadas) e a taxa de prenhez (número de fêmeas prenhes em relação ao número de tratadas).

O diagnóstico de gestação foi realizado por meio de ultra-sonografia 40-50 dias após a IA, em todos os experimentos.

Experimento I

Cerca de 320 novilhas virgens da raça Nelore, com idade média de 30 meses, submetidas a avaliação ultra-sonográfica transretal (Aloka SSD 500; transdutor de 7,5 MHz) e os animais com corpo lúteo (CL) e/ou flutuação (crescimento folicular) em pelo menos um dos ovários foram selecionadas. As novilhas que não tinham atingindo a puberdade (ovários pequenos e lisos), foram excluídas do experimento.

As novilhas selecionadas (n=222) foram distribuídas ao acaso em 3 grupos experimentais: **(GP)** GnRH-7dias-PGF_{2α} (controle, n=71), **(GPE)** GnRH-7dias-PGF_{2α}-24 horas-Benzoato de estradiol (n=71) e **(PP-GPE)** PGF_{2α} -11dias- PGF_{2α}- GnRH-7dias-PGF_{2α}-24 horas-Benzoato de estradiol (n=80).

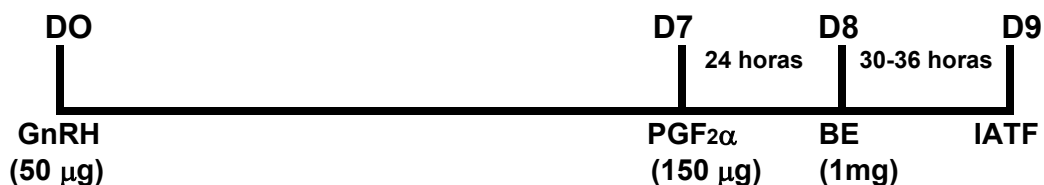
Em estágio aleatório do ciclo estral, foi administrado um análogo do GnRH [acetato de gonadorelina (Lecirelina), 50 µg, Gestran Plus®, via IM]. Sete dias após, os animais receberam dose única de PGF_{2α} (d-cloprostenol, 150 µg, Prolise®, via IM). Após a administração de PGF_{2α} os animais do grupo GP foram observados durante 7 dias consecutivos, duas vezes ao dia, para a detecção do estro na presença de rufiões (machos com desvio lateral do pênis), providos de buçal marcador, na proporção de 1 para 10 novilhas. Todos os animais observados em cio foram inseminados cerca de 12 horas após a detecção do mesmo.

GRUPO GP



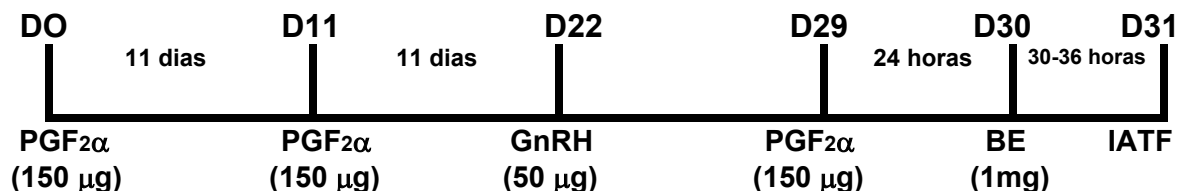
Nas novilhas do grupo GPE, o tratamento foi similar ao grupo GP, exceto que 24 horas após a administração de $\text{PGF}_{2\alpha}$, todos os animais receberam uma injeção de benzoato de estradiol (BE, 1,0 mg, Estrogin®, via IM, dia 8). Cerca de 30-36 horas após a administração do BE, todas as novilhas foram inseminadas, sem observação de cio (dia 9).

GRUPO GPE



Nas novilhas do grupo PP-GPE, o tratamento foi similar ao grupo GPE, exceto que esses animais, tiveram uma pré sincronização com duas doses de $\text{PGF}_{2\alpha}$, com intervalo de 11 dias entre uma aplicação e outra, e onze dias após a última dose de $\text{PGF}_{2\alpha}$, iniciou-se o protocolo GPE.

GRUPO PP-GPE



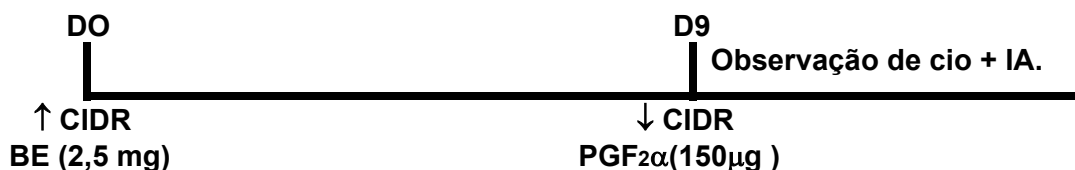
Experimento II

Cerca de 600 vacas Nelore lactantes com 60-90 dias de paridas, foram submetidas à palpação retal e os animais com corpo lúteo (CL) e/ou flutuação (crescimento folicular) em pelo menos um dos ovários foram selecionados.

As vacas selecionadas (310 vacas) foram distribuídas aleatoriamente em quatro grupos experimentais: Controle (n= 82), CIDR/IATF (n=80), P₄100 mg (n=72) e P₄50/50 mg (n=76).

Em dia aleatório do ciclo estral os animais receberam um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (1,9 g de progesterona, CIDR®) e uma injeção de benzoato de estradiol (BE, 2,5 mg, Estrogin®, via IM, Dia 0). Nove dias após, retirou-se o dispositivo intravaginal e os animais receberam uma dose de PGF₂ α (d-cloprostenol, 150 μ g, Prolise®, via IM). Após a administração da PGF₂ α , os animais do grupo controle, foram observados durante 5 dias consecutivos, duas vezes ao dia para a detecção do estro na presença de rufiões (macho com desvio lateral do pênis) providos de buçal marcador, na proporção de 1 rufião para 8 vacas. Todos os animais observados em cio foram inseminados cerca de 12 horas após a detecção do mesmo.

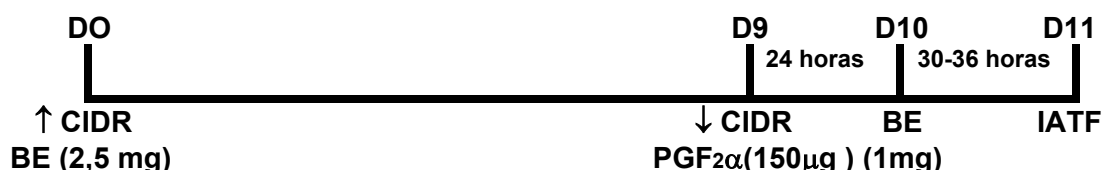
Grupo Controle



Nas vacas do grupo CIDR/IATF, o tratamento foi similar ao do grupo CIDR+observação de cio, exceto que vinte e quatro horas após a retirada do dispositivo intravaginal e aplicação de PGF₂ α , todos os animais receberam uma injeção de BE (1,0

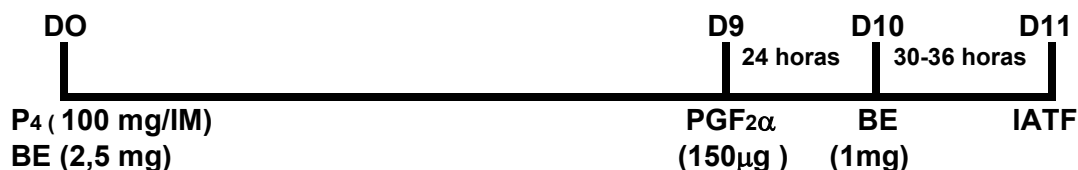
mg, via IM, D10). Após 30-36 horas da aplicação da última aplicação de benzoato de estradiol, todos os animais foram inseminados sem observação de cio.

Grupo CIDR/ IATF



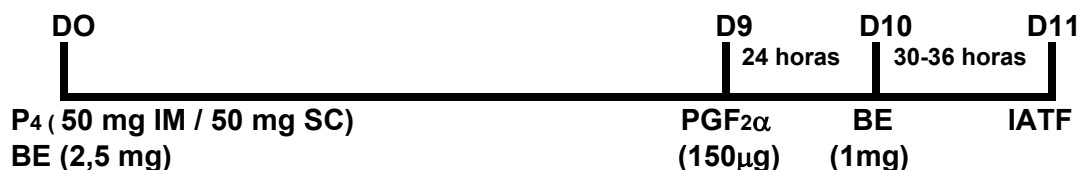
Nas vacas do grupo P₄100 mg, os animais receberam, em dia aleatório do ciclo estral um injeção de progesterona (progesterona, 100 mg, Progesterona®, via IM) e outra aplicação de benzoato de estradiol (BE, 2,5 mg, Estrogin®, via IM, Dia 0). Nove dias após, os animais receberam dose única de PGF_{2α} (d-cloprostenol, 150 μg, Prolise®, via IM). Vinte e quatro horas após a PGF_{2α}, todos os animais receberam uma injeção de benzoato de estradiol (1mg, via IM, Dia 10). Trinta a trinta e seis horas após a segunda aplicação de benzoato de estradiol, todos os animais foram inseminados sem observação de cio.

Grupo P₄100 mg



Nas vacas do Grupo P₄50/50 mg, o tratamento foi similar ao Grupo P 100 mg, exceto que no dia 0, a aplicação da dosagem total de progesterona (100 mg), foi dividida em 50 mg pela via intramuscular e 50 mg pela via subcutânea.

Grupo P₄50/50 mg



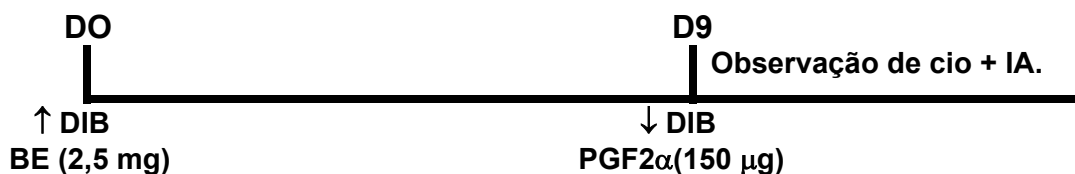
Experimento III

Cerca de 230 vacas Nelore e Mestiças $\frac{1}{2}$ sangue Nelore e $\frac{1}{2}$ Red Angus lactantes com 60-90 dias de paridas, foram submetidas à ultra-sonografia trans retal e os animais com corpo lúteo (CL) e/ou flutuação (crescimento folicular) em pelo menos um dos ovários foram selecionadas. As vacas que apresentaram ovários liso e pequenos foram descartadas do experimento.

As vacas selecionadas (185 vacas, sendo 102 Mestiças e 83 Nelore) foram distribuídas aleatoriamente em três grupos experimentais: Controle (n=25; 13 Nelore e 12 Mestiças), IATF (n= 81; 34 Nelore e 47 Mestiças) e IATF-RTB (n=79; 36 Nelore e 43 Mestiças).

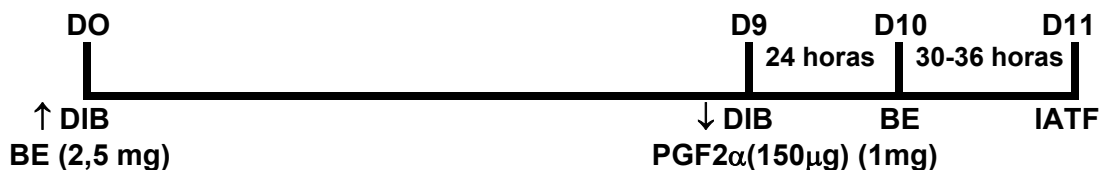
Em dia aleatório do ciclo estral os animais receberam um dispositivo intravaginal liberador de progesterona (1g de progesterona, DIB®) e aplicado uma injeção de benzoato de estradiol (BE, 2,5 mg, Estrogin®, via IM, Dia 0). Nove dias após, retirou-se o dispositivo intravaginal e os animais receberam uma dose de PGF₂α (d-cloprostenol, 150 μg, Prolise®, via IM). Após a administração da PGF₂α, os animais do grupo controle, foram observados durante 5 dias consecutivos, duas vezes ao dia para a detecção do estro na presença de rufiãs (fêmeas androgenizadas com Decadurabolin®) providas de buçal marcador, na proporção de 1 rufiã para 7 vacas.

Grupo Controle



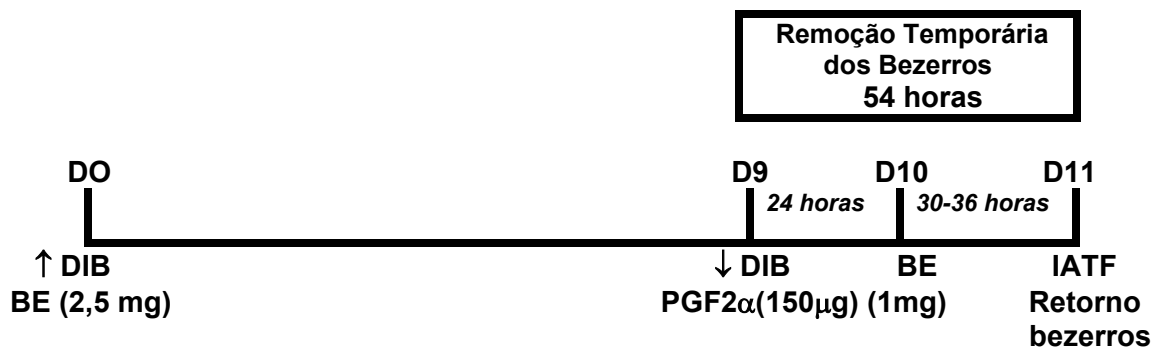
Nas vacas do grupo IATF, o tratamento foi similar ao do grupo DIB+observação de cio, exceto que vinte e quatro horas após a retirada do dispositivo intravaginal e aplicação de PGF2 α , todos os animais receberam uma injeção de BE (1,0 mg, via IM, D10). Após 30-36 horas da aplicação da última aplicação de benzoato de estradiol, todos os animais foram inseminados sem observação de cio.

Grupo IATF



Nas vacas do grupo IATF-RTB, o tratamento foi similar ao do grupo DIB+IATF de cio, exceto que no D9 fez-se a remoção temporária de bezerros(RTB) e estes retornaram junto à suas mães após a IATF (D11), totalizando um período de 54 horas de aparte.

Grupo IATF-RTB



Análise Estatística

As análises estatísticas dos resultados obtidos nos três experimentos foram feitas por regressão logística. As comparações dos resultados foram feitas através de contraste ortogonais entre os grupos tratados (Exp. I, II e III) e dentro das raças (Exp.III).

RESULTADOS

Experimento I

Entre as 71 novilhas do grupo controle (GP), apenas 45 (63%) manifestaram cio e destas 8 ficaram prenhez, resultando em taxas de concepção e de prenhez de 17,7% e 11,26%, respectivamente. Nos animais dos grupos GPE e PP-GPE a porcentagem de animais prenhes após a IATF foi de 11,25% e 7,46%, respectivamente. Nas novilhas tratadas com o protocolo PP-GPE, pré sincronizadas com $\text{PGF2}\alpha$, a taxa de animais observados em cio foi de 52,11 após a Segunda aplicação de $\text{PGF2}\alpha$ (Tabela 1).

Não houve interferência de touro (n=4) e inseminador (n=2) nas taxas de prenhez ($p>0,05$). A taxa de prenhez obtida após os 3 tratamentos hormonais, não diferiram estatisticamente entre si ($p=0,69$).

Uma grande porcentagem (GP= 35%, GPE=42,2% e PPGPE=46,77%) dos animais tratados nos 3 grupos experimentais teve intervalo de retorno ao cio, após a inseminação artificial, superior a 25 dias. Diante destas observações, suspeitou-se de reabsorção embrionária causada possivelmente por Rinotraqueite Viral Bovina (IBR). Essa hipótese, foi confirmada, quando se coletou amostras de sangue de 20 novilhas escolhidas aleatoriamente entre os 3 grupos experimentais (GP=7, GPE=6 e PP-GPE=7), das quais 16(80%) apresentaram sorologia positiva.

Experimento II

Não houve interferência de touro ($n=12$) e inseminador ($n=3$) nas taxas de prenhez ($p>0,05$).

O grupo denominado Controle era composto por 82 animais, no início do tratamento. Porém, 7 vacas foram excluídas, por não apresentarem o dispositivo intravaginal no D9 (dia da retirada do CIDR). Dos 75 animais restantes, 58 (77,3%), manifestaram estro após a retirada do dispositivo; e 31 ficaram prenhes (41,3%, Tabela 2).

O tratamento CIDR/IATF, inicialmente era composto por 80 animais, porém excluiu-se 8 (10%) vacas, por também perderem o dispositivo intravaginal durante o protocolo. Dos 72 animais inseminados neste grupo, 37 tornaram-se prenhez, resultando numa taxa de prenhez de 51,3%, não havendo diferença estatística, quando esses dados foram comparados com os do grupo controle ($p=0,91$).

Os tratamentos utilizando progesterona injetável por via intramuscular (P4100mg) e/ou intramuscular/subcutânea (P450/50mg), obtiveram taxa de prenhez de 18,05% e 15,78%, respectivamente, não apresentando diferença estatística entre esses dois protocolos ($p=0,84$).

Houve diferença estatística, quando se comparou os resultados de taxa de prenhez entre o grupo controle e os grupos CIDR/IATF, P4100mg e P450/50mg ($p=0,0025$), bem como, quando a comparação foi realizada entre o grupo CIDR/IATF e os dois tratamentos P4100mg e P450/50mg ($p=0,0001$).

Experimento III

Das 25 vacas incluídas no tratamento Controle , 13 eram animais da raça Nelore e os demais (12 vacas) eram Mestiças (Nelore x Red Angus). Das 13 vacas da raça Nelore, 50% manifestaram estro após a retirada do DIB, resultando em taxa de concepção e prenhez de 16,66% e 7,69%, respectivamente. As vacas Mestiças apresentaram taxa de manifestação de estro de 61,53%, taxa de concepção de 62,5% e de prenhez de 41% (tabela 3).

O grupo IATF, era composto por 81 vacas, das quais, 34 eram animais da raça Nelore e 47 Mestiças. A taxa de prenhez das vacas da raça Nelore e Mestiças tratadas com este protocolo foi de 23,52% e 59,57%, respectivamente.

As vacas Nelores (n=36) incluídas no protocolo IATF-RTB apresentaram taxa de prenhez de 69,44%, enquanto que nas Mestiças (n=43) esta taxa foi de 55,81%.

Como houve interação entre raça e grupos de tratamentos ($p=0,0022$), uma vez que nas vacas Nelore as taxas de prenhez foram menores nos tratamentos controle (7,69%) e IATF (23,52%) do que no tratamento IATF-RTB (69,44%), os grupos foram então comparados dentro de cada raça.

Quando se comparou o desempenho da mesma raça entre os 3 tratamentos hormonais, a raça Nelore apresentou diferença estatística entre os grupos controle versus IATF($p=0,0042$) e grupo IATF versus IATF-RTB ($p=0,001$), não ocorrendo o mesmo com as vacas Mestiças ($p=0,34$).

As vacas Mestiças responderam melhor ao tratamento Controle ($p=0,079$) e IATF ($p=0,0007$) em relação as vacas Nelore. Porém, no protocolo IATF-RTB as vacas da raça Nelore foram mais responsivas a este tratamento, quando comparadas às Mestiças ($p=0,194$, Tabela 3).

Tabela 1 – Proporção e porcentagem (entre parênteses) de animais com corpo lúteo (CL) no início do tratamento, de novilhas que foram detectadas em estro após a primeira (grupo GP) ou segunda (grupo PP-GPE) aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$, taxa de concepção, taxa de prenhez e taxa de retorno ao cio de 26 a 40 dias após a inseminação artificial de novilhas Nelore submetidas a 3 tratamentos hormonais: **GP** (GnRH-7dias- $\text{PGF}_{2\alpha}$ -*observação de cio*), **GPE** (GnRH-7dias- $\text{PGF}_{2\alpha}$ -24horas-BE-30 a 36 horas-IATF) e **PP-GPE** ($\text{PGF}_{2\alpha}$ -11dias- $\text{PGF}_{2\alpha}$ -11dias-GPE).

	GP (n=71)	GPE (n=80)	PP-GPE (n=71)
CL	40/71 (56)	48/80 (60)	31/71 (43)
Detecção em cio	45 /71 (63)	----	37/71 (52,11)
Concepção	8/45 (17,7)	----	----
Prenhez ¹	8/71 (11,26) ^a	9/80 (11,25) ^a	5/67 (7,46) ^a
Retorno cio (+25 dias)	13/37 (35)	30/71 (42,2)	29/62 (46,77)

¹ Não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os três tratamentos.

Tabela 2 – Proporção e porcentagem (entre parênteses) de animais com corpo lúteo (CL) no início do tratamento, de vacas que foram detectadas em cio após a retirada do dispositivo intravaginal (grupo Controle), taxa de concepção e taxa de prenhez de vacas Nelore com 60-90 dias pós parto, submetidas a 4 tratamentos hormonais: **Controle** ($\uparrow$ CIDR+BE-9dias- $\downarrow$ CIDR+PGF2 α -observação de cio e IA), **CIDR/IATF** ($\uparrow$ CIDR+BE-9dias- $\downarrow$ CIDR+PGF2 α -24horas-BE-30a36horas-IATF), **P4100mg** (P4100mg+BE-9dias-PGF2 α -24horas-BE-30a36horas-IATF) e **P450/50mg** (P450/50mg +BE-9dias- PGF2 α -24horas-BE-30a36horas-IATF).

	Controle (n=82)	CIDR /IATF (n=80)	P 100 mg (n=72)	P 50/50 mg (n=76)
CL	30/82 (36,5)	33/80 (41,25)	26/72 (36,11)	32/76 (42,1)
Detecção de cio	58/75 (77,3)	----	----	----
Concepção	31/58 (53,4)	----	----	----
Prenhez ¹	31/75 (41,3)	37/72 (51,3)	13/72 (18,05)	12/76 (15,78)

¹ Grupo controle vs. Grupo CIDR /IATF, P100mg e P50/50mg (p=0,0025); Grupo controle vs. Grupo CIDR/ IATF (p=0,91); Grupo CIDR/ IATF vs. Grupo P100 mg e P50/50mg (p=0,0001); Grupo P100 mg vs. Grupo P50/50mg (p=0,84).

Tabela 3 – Proporção e porcentagem (entre parênteses) de animais da raça Nelore e Mestiços (RedxNelore) nos grupos experimentais, de vacas com corpo lúteo (CL) no início do tratamento, detecção de estro após a retirada do dispositivo intravaginal no grupo Controle, taxa de concepção e taxa de prenhez, de vacas Nelore com bezerros ao pé (60-90 dias paridas) submetidas a 3 tratamentos hormonais: **Controle** ($\uparrow$ DIB+BE-9dias- $\downarrow$ DIB+PGF₂ α -observação de cio IA), **IATF** ($\uparrow$ DIB+BE-9dias- $\downarrow$ DIB+PGF₂ α -24horas-BE-30a36horas-IATF) e **IATF-RTB** ($\uparrow$ DIB+BE-9dias- $\downarrow$ DIB+PGF₂ α +Remoção dos bezerros-24horas- BE-30a36horas -IATF+retorno dos bezerros)

	Controle	IATF	IATF-RTB
Total de Animais			
Nelore	13/25 (52)	34/81 (41,98)	36/79 (45,57)
Mestiços	12/25 (48)	47/81 (58,02)	43/79 (54,43)
Presença de CL			
Nelore	11/13 (84,61)	21/34 (61,76)	29/36 (80,55)
Mestiços	10/12 (83,33)	43/47 (91,48)	32/43 (74,50)
Detecção de Cio			
Nelore	6/12 (50)	****	****
Mestiços	8/13 (61,53)	****	****
Taxa Concepção			
Nelore	1/6 (16,66)	****	****
Mestiços	5/8 (62,5)	****	****
Taxa Prenhez			
Nelore ¹	1/13 (7,69) ^a A	8/34 (23,52) ^b A	25/36 (69,44) ^c A
Mestiços ²	5/12 (41) ^a B	28/47 (59,57) ^a B	24/43 (55,81) ^a B

¹ **abc** - letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os 3 tratamentos na raça Nelore– Grupo controle vs. Grupo IATF e IATF-RTB (p=0,0042); Grupo IATF vs. Grupo IATF-RTB (p=0,001).

² **a**–letras iguais na mesma linha, indicam que não houve diferença estatística na raça Mestiça - Grupo controle vs .Grupo IATF e IATF-RTB (p=0,34); Grupo IATF vs. Grupo IATF-RTB (p=0,7)

AB – letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística entre as raças dentro dos 3 tratamentos, grupo controle (p=0,079); Grupo IATF (p=0,0007) e Grupo IATF-RTB (p=0,019).

DISCUSSÃO

Experimento I

O tratamento de novilhas Nelore com os protocolos GnRH-PGF (GP), GnRH-PGF-BE (GPE) e PGF-PGF-GnRH-PGF-BE (PP-GPE) proporcionou baixa taxa de prenhez nos animais tratados.

Vários trabalhos têm indicado que a administração de GnRH seguida por 6 ou 7 dias mais tarde pela injeção de $\text{PGF2}\alpha$ é um sistema eficaz para a sincronização do estro e resulta em boa fertilidade em vacas tratadas (Guilbault et al., 1991; Twagiramungu et al., 1992a; Thatcher et al., 1993, Wolfwanson et al., 1994). O intervalo de 7 dias entre o GnRH e a $\text{PGF2}\alpha$, permite tempo suficiente para a maturação e responsividade do novo CL à $\text{PGF2}\alpha$ (Wiltbank et al., 1996). A administração de uma segunda dose de GnRH 1,5 a 2 dias após a $\text{PGF2}\alpha$ sincroniza melhor o momento da ovulação tanto em raças européias (PURSLEY et al., 1995; BURKE et al., 1996) quanto em zebuínas (MOREIRA, 1997; GAMBINI et al., 1997), permitindo desta forma, a realização da inseminação com horário predeterminado. O GnRH, injetado 24 ou 48 horas após a $\text{PGF2}\alpha$, concentra as ovulações entre 24 e 32 horas após sua aplicação, o que permite a realização da IA com tempo fixo cerca de 20 horas após a segunda dose de GnRH (Wiltbank et al., 1996; Burke et al., 1996).

Outra possibilidade é substituir a segunda dose de GnRH por benzoato de estradiol (BE). Neste novo protocolo (GnRH - $\text{PGF2}\alpha$ - BE) o BE, através de retroalimentação positiva no hipotálamo e hipófise, irá induzir um pico pré ovulatório de LH e, conseqüentemente, sincronização da ovulação (Barros et al., 2000; Fernandes et al., 2001). O intervalo entre a aplicação do benzoato de estradiol e IATF é de 30-34, pois a ovulação ocorrerá entre $45,4 \pm 2$ horas (Barros et al., 2000) . Em vacas Nelore com 60-90 dias pós parto, ciclando, Fernandes et al.(2001), obtiveram 43,3% de prenhez, porém em vacas em anestro, os resultados foram inferiores, atingindo 14,7%

de prenhez. Castilho et al.(2000), também obtiveram baixas taxas de prenhez (27,3%) em novilhas girolandas, quando utilizou o protocolo GPE.

O tratamento com GnRH induz a ovulação do folículo dominante (Thatcher et al., 1993), possibilitando a emergência de uma nova onda de crescimento folicular aproximadamente 2 dias depois (Twagiramungu et al.,1994, 1995). Porém, o momento do desenvolvimento folicular em que o GnRH é aplicado influencia a taxa de ovulação nos animais tratados (Edwards et al., 1983; Dun et al., 1985). VASCONCELOS et al.(1999), observaram que a porcentagem de vacas que ovularam a primeira injeção de GnRH no protocolo Ovsynch, foi menor (23%) nos animais que estavam entre os dias 1 e 4 do ciclo estral, e maior (96%) nos que estavam entre os dias 5 e 9. SILCOX et al.(1993), relataram que o GnRH induziu a ovulação em 100% dos folículos, quando estes se encontravam na fase de crescimento (>10 mm) , em 33%, quando estavam na fase de platô e 0% (nenhuma ovulação) quando encontravam-se em atresia. Em novilhas, obteve-se taxa de ovulação de 75%, quando a aplicação de GnRH foi feita durante a fase de crescimento do folículo dominante, porém a taxa de ovulação declinou para 44% quando o folículo dominante encontrava-se na fase estática ou em regressão (MARTINEZ et al., 1997).

A taxa de ovulação de novilhas tratadas com GnRH (D0) geralmente situa-se em torno de 56% (PURSLEY et al., 1995) ou 50% (MARTINEZ et al., 2000) e é alta (17,3%) a incidência de animais que manifestam estro antes da aplicação da $\text{PGF2}\alpha$ (Roy & Twagiramungu, 1999). Willians et al. (2002) relataram que 28,9% das novilhas *Bos indicus* tratadas com protocolos Ovsynch (GnRH- $\text{PGF2}\alpha$ -GnRH) exibiram estro entre a primeira aplicação de GnRH e o tempo determinado para IATF. A incidência de estros prematuros e de baixa fertilidade em novilhas tratadas com GnRH, é devido a inconsistência na resposta a primeira aplicação de GnRH (Martinez et al., 2001). Essa variabilidade na resposta à aplicação de GnRH, talvez possa ser explicada pelo fato do ciclo estral de novilhas ter a predominância de 3 ondas de crescimento folicular (Fortune, 1993; Castilho et al., 2000, Wiltbank et al., 2002), o que, aumentaria as chances de no momento da aplicação do GnRH, não haver um folículo apto a ovular, conseqüentemente, a sincronização do desenvolvimento folicular, decorrente da ovulação induzida pelo GnRH, estaria comprometida (Martinez et al., 2002).

Uma alternativa para contornar o problema de antecipação do estro em novilhas tratadas com GnRH, seria a redução do intervalo entre a primeira aplicação de GnRH e a PGF2 α de 7 para 6 dias (Roy & Twagiramungu, 1999). Porém Castilho et al. (2000), observaram que 100% (7/7) das novilhas tratadas com o protocolo GPE, no qual a PGF2 α foi aplicada no D6, não sofreram luteólise, resultando em 0% de taxa de prenhez nesses animais.

Entre as 71 novilhas tratadas no grupo controle (GP), 45 (63%) manifestaram cio até 5 dias após a injeção de PGF2 α (D7), resultando em taxa de concepção e prenhez de 17,7% e 11,26%, respectivamente. Figueiredo (2002), tratando novilhas Nelore com o protocolo GP, obteve porcentagem menor (47%) de animais manifestando estro após a PGF2 α , porém as taxas de concepção (74%) e prenhez (35%), foram superiores.

No grupo PP-GPE, que houve pré sincronização do estro com duas doses de PGF2 α , com intervalo de 11 dias entre as aplicações, 52,11% das novilhas manifestaram estro após a segunda dose de PGF2 α , demonstrando que houve uma sincronia do estro entre os animais tratados. Essa porcentagem de animais manifestando cio após a segunda aplicação de PGF2 α , são similares às encontradas por FIGUEIREDO et al., (1997). Porém a taxa de prenhez após a IATF, no protocolo PP-GPE, também foi baixa (7,46%).

Cerca de 40% das novilhas que não engravidaram após a IATF(GP=35%, GPE=42,2% e PP-GPE=46,77%), voltaram a manifestar estro somente 26-40 dias mais tarde. Diante deste comportamento, foram escolhidas aleatoriamente entre os três grupos tratados, 20 novilhas para sorologia de IBR (Rinotraqueite Infecciosa Bovina); entre essas, 16 (80%), apresentaram resultado positivo à esta enfermidade. Como o experimento foi realizado durante os meses de dezembro/01 e janeiro/03, época de altos índices pluviométricos, o excesso de manejo dos animais (várias vezes no curral para aplicação dos hormônios) e as condições pouco favoráveis, devido ao excesso de lama no curral, podem ter contribuído para aumentar o estresse dessas novilhas, favorecendo a manifestação desta enfermidade e diminuindo as taxas de prenhez (Van Der Maaten & Miller, 1985; Miller, 1991).

Experimentos II e III

A associação do dispositivo intravaginal (CIDR) com o BE e PGF2 α , foi eficiente em sincronizar o estro dos animais tratados no grupo Controle. Neste tratamento, 77,3% das vacas manifestaram estro após a retirada do dispositivo intravaginal (D9). A taxa de concepção e prenhez foram de 53,4% e 41,3% respectivamente. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al. (2001), no qual, trabalhando com vacas Nelore paridas (60-80 dias pós parto), a taxa de manifestação de estro entre os animais tratados com CIDR, foi de 76,9%.

O protocolo CIDR/IATF foi eficiente em sincronizar tanto o desenvolvimento folicular, quanto a ovulação dos animais tratados, pois a taxa de prenhez obtida foi de 51,3%.

Os animais dos grupos P4100mg e P450/50mg, tiveram baixo desempenho reprodutivo nesses protocolos, apresentando taxa de prenhez de 18,05% e 15,78%, respectivamente. Uma única aplicação de P4 (D0) pode não ter sido suficiente em manter níveis adequados deste esteróide na circulação, devido a sua rápida metabolização. Portanto, o mecanismo de retroalimentação negativa exercido pela P4 e o estrógeno sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário, que inibe a secreção de gonadotrofinas (LH e FSH) pode não ter acontecido, comprometendo o desenvolvimento folicular esperado durante este tratamento.

No experimento III, utilizou-se o dispositivo intravaginal DIB, recentemente lançado no mercado nacional. Este dispositivo assemelha-se ao CIDR, porém sua concentração de P4 é de 1 grama.

Desconsiderando a interação raça e tratamento que ocorreu neste experimento, as taxas de prenhez obtidas entre todos os animais tratados nos grupos Controle e IATF, foram de 24% e 44%, respectivamente. Porém, inexplicavelmente, animais da raça Nelore, apresentaram taxa de prenhez inferior (Controle= 7,69% e IATF=23,52%) em relação a vacas Mestiças. No trabalho realizado por CUTAIA et al.(2001), vacas mestiças *Bos taurus* x *Bos indicus* tratadas com o dispositivo intravaginal DIB, apresentaram taxa de prenhez de 49,5%.

O uso dos dispositivos intravaginais liberadores de P4 associado ao BE é um tratamento hormonal bastante utilizado para a IATF, tanto em bovinos de leite como de corte; e seu emprego otimiza os índices reprodutivos atenuando problemas de manejo como falha na detecção de cio (Bó et al., 2003).

A associação do estradiol nos tratamentos com progesterona foi realizado quando se descobriu que o estrógeno induzia a regressão luteal (Wiltbank et al., 1961). Durante a década de 90, observou-se que além do efeito luteolítico, o estradiol também suprimia o desenvolvimento de folículos antrais. A aplicação do E2 associada ao CIDR, em novilhas ovariectomizadas, resultou num pico das concentrações de estrógeno $13,4 \pm 1,24$ horas após o início do tratamento (Rourke et al., 2000); e este pico suprime as concentrações de FSH por 64 horas (Bó et al., 1990). A administração do BE em associação com P4 induz a atresia do folículo dominante nos ovários dentro de 36 horas (Burke et al., 2003), mas a emergência de uma nova onda de crescimento folicular ocorre em média de $4,3 \pm 0,2$ dias depois (Bó et al., 1993; Bó et al., 1995).

Estudos *in vivo* com animais ovariectomizados demonstraram que 2 horas após a inserção do dispositivo intravaginal (CIDR) os níveis plasmáticos de P4 atingem seu pico (6ng/ml). Este pico é mantido por 48 horas e então as concentrações vão declinando gradativamente, se mantendo em níveis aproximados de 3 ng/ml até a retirada do dispositivo (Munro, 1987). Outros autores relatam amplas variações (4,2 a 7,2 ng/ml) nos níveis plasmáticos de P4 dos animais ovariectomizados tratados com CIDR (Petterson & Henderson, 1990; Macmillan & Peterson, 1993). Durante o período de tratamento (9 dias) o CIDR liberou aproximadamente 1,1 g de P4. Portanto as variações nas concentrações plasmáticas de P4 durante o período de inserção do dispositivo não é devido a variações nas quantidades de progesterona liberada, mas sim na habilidade dos animais tratados em metabolizar este esteróide (Petterson & Henderson, 1990). Em vacas ovariectomizadas tratadas com o dispositivo intravaginal DIB, o pico (5-6mg/ml) das concentrações de progesterona foi alcançado dentro de 1-3 horas após a inserção do mesmo. Essas concentrações foram mantidas por aproximadamente 2 dias, declinando gradualmente, se estabilizando em 2-3 ng/ml, até a retirada do dispositivo (Bó et al., 2003).

A utilização do benzoato de estradiol, 24 horas após a retirada dos dispositivos intravaginais, como sincronizador da ovulação, foi eficiente, pois os animais tratados nos grupos CIDR/IATF (Exp.II) e IATF (Exp.III) apresentaram taxa de prenhez de 51,3% e 44%, respectivamente. A administração de benzoato de estradiol em situações em que os níveis de P4 estão abaixo de 1,0 ng/ml, induz o aparecimento do pico ovulatório de LH 16 a 24 horas após (Bó et al., 1995). MOREIRA, 2003, tratando vacas Nelore paridas e solteiras (sem bezerros) com o protocolo Crestar®, avaliou a eficiência do BE, GnRH e eCG na sincronização da ovulação. Não houve diferença na taxa de ovulação entre os três hormônios testados. Além de ser uma opção mais barata, o BE, induz um comportamento estral mais caracterizado (considerável descarga de muco e melhor abertura da cérvix) comparado com animais tratados com GnRH e eCG (Martinez et al., 2002).

Em vacas em anestro pós parto, as concentrações de progesterona liberadas pelo CIDR, estão abaixo das encontradas na fase luteal, o que permite aumento na pulsatilidade de LH, ocasionando maior crescimento do folículo dominante e conseqüentemente maior produção de estradiol, resultando na ovulação do mesmo em 75 a 100% das vacas tratadas, no momento da retirada do dispositivo (Savio et al., 1993; Yavas & Dalton, 2000a). Outro efeito deste esteróide, é de prolongar a vida do corpo lúteo formado a partir do folículo selecionado neste período, provavelmente por inibir receptores de ocitocina no endométrio, diminuindo a probabilidade da ocorrência de ciclos curtos (Zollers et al., 1993). Uma outra possibilidade para aumentar a pulsatilidade de LH em vacas em anestro é a remoção temporária dos bezerros (Willians & Griffth, 1995).

A associação de tratamentos utilizando progesterona ou progestágenos associados a remoção temporária de bezerros, é eficiente em induzir o estro nas vacas Nelore em anestro pós parto (Yelich et al., 1995; Firmino et al., 1999). MENEGHETTI et al.(2001), verificaram que a remoção dos bezerros por 48 horas, aumentou o tamanho do folículo dominante em vacas Nelore em anestro, e que estas apresentaram maior taxa de ovulação (85,4%) à primeira aplicação de GnRH, quando comparadas as que não sofreram remoção de bezerros (taxa de ovulação de 51,0%). Resultados similares foram descritos por RIVERA et al. (1997), onde a remoção

temporária dos bezerros por 48 horas, no momento da retirada do dispositivo intravaginal (CIDR, D9) e aplicação de GnRH 6 horas antes do retorno dos bezerros junto à suas mães, resultou em taxa de ovulação de 86% nos animais tratados. Estes dados mostram que a remoção de bezerros é uma importante ferramenta de manejo visando aumentar a taxa de ovulação nas vacas Nelore em anestro, e que o mecanismo provavelmente seja pelo aumento da secreção de LH com aumento do tamanho e persistência do folículo dominante.

A associação do protocolo IATF-RTB, resultou em aumento da taxa de prenhez (62%) nos animais tratados, mesmo a maioria das vacas deste grupo, não se encontrando em anestro pós parto (77,21% das vacas apresentavam CL no início do tratamento). Embora todos os animais utilizados no grupo IATF-RTB apresentassem a mesma condição corporal (3, numa escala 1-5) e intervalo pós parto semelhantes (60-90 dias), surpreendentemente, as vacas Nelore foram mais responsivas a este tratamento (taxa de prenhez de 69,44%) em relação às Mestiças (taxa de prenhez de 55,81%). Alguns trabalhos têm demonstrado que a remoção temporária de bezerros pode surtir melhor efeito em determinada raça (Sanz et al., 2003), ou em determinada categoria de idade das vacas tratadas (Geary et al., 2001).

Uma possível explicação para o melhor desempenho da raça Nelore no tratamento IATF-RTB em relação às Mestiças, poderia ser sustentada pelas observações feitas por DAS et al. (2000). Segundo estes autores, bezerros de vacas zebuínas, apresentam maior frequência e duração do ato de mamada, possivelmente devido a baixa produção de leite de suas mães. Diante às estas observações, poderia se concluir que, embora a grande maioria dos animais tratados nos grupos do Exp.III, não se apresentassem em anestro pós parto, nas vacas Neloires, a remoção temporária dos bezerros, pode ter aumentado a pulsatilidade de LH, proporcionando uma melhor sincronia na ovulação destes animais.

Resultados divergentes a este experimento foram demonstrados por BARREIROS et al.(2003), no qual, não foi observada melhora na taxa de prenhez de vacas Nelore tratadas com o dispositivo intravaginal CIDR, associado a remoção temporária de bezerros. Talvez, estes resultados contraditórios possam ser explicados pela existência de diferentes linhagens de animais dentro de uma mesma raça.

A RTB associada a tratamentos hormonais com dispositivos intravaginais liberadores de progesterona, tendeu a aumentar a taxa de prenhez de vacas Nelores ciclando, porém estudos futuros são necessários para se confirmar estes resultados.

CONCLUSÕES

A baixa taxa de prenhez observada no tratamento GPE em novilhas Nelore, possivelmente foram decorrentes da interferência de IBR nos animais tratados, indicando a necessidade de mais estudos para se avaliar a eficiência deste protocolo.

Os tratamentos hormonais utilizando o dispositivo intravaginal CIDR, foram eficientes em sincronizar o crescimento folicular e a ovulação de vacas Nelore paridas, porém, nos protocolos que se realizou aplicação de dose única de progesterona por via intramuscular e/ou subcutânea (D0), proporcionaram baixa taxa de prenhez entre os animais tratados.

A remoção temporária de bezerros associadas ao tratamento hormonal com dispositivo intravaginal liberador de progesterona (DIB) foi efetiva em aumentar a taxa de prenhez nos animais tratados, especialmente nas vacas Nelore.

ABSTRACT

The short duration of estrous behavior makes it difficult to detect estrus in Nelore (*Bos indicus*) females. In order to overcome this problem, hormonal treatments that synchronize ovulation and allow fixed-time artificial insemination (FTAI) were tested.

In Experiment (Exp.) I, Nelore heifers (n=222), were randomly allocated to 3 groups: Group GP (n=71), GPE (n=71) and PP-GPE (n=80). The heifers from Group GP were administered a GnRH agonist (50 µg gonadorelin acetate, im, Day 0) followed 7 days later by PGF2 α (150 µg dl-cloprostenol, im, Day 7). After PGF2 α injection, heifers were observed twice a day to detect estrus. All animals from this Group were and AI was performed 12 afterwards. In GPE group the heifers were treated as in Group GP and received an injections of estradiol benzoate (EB, 1.0 mg, im, Day 8) 24 h after PGF2 α administration. All heifers from this group were FTAI 30 to 36 h after EB injection (Day 9). The animals from group PP-GPE were pre-synchronized with two injections of PGF2 α , administered 11 days apart. Eleven days after the last PGF2 α administration the heifers were treated and FTAI as in GPE protocol.

In Exp. II, Nelore cows (60 to 90 days postpartum) were randomly allocated into 4 groups: Group Control (n=82), Group CIDR/FTAI (n=80), Group P4100mg (n=72) and Group P450/50mg (n=76). The animals from Group Control received a progesterone intravaginal device (CIDR, 1.9 g progesterone) and an injection of EB (2.5 mg, im, Day 0). Nine days later the CIDR was removed and PGF2 α (150 µg, im) was administered (Day 9). After PGF2 α injection, heifers were observed twice a day to detect estrus and AI was performed 12 afterwards. Group CIDR/FTAI, this treatment was similar to Group Control, except that 24 h after CIDR removal and PGF2 α administration, the animals received EB (1.0 mg, im). Thirty to 36 h after the last EB injection, all the cows were FTAI. The animals from Groups P4100mg and P450/50mg were treated as those from Group CIDR/FTAI, except that instead of receiving CIDR, they were treated with 100mg

of progesterone administered intramuscularly (Group P4100mg) or 50 mg intramuscularly and 50 mg subcutaneously (Group P450/50mg, Day 0).

In Exp. III, lactating Nelore (n=83) and crossbred (n=102) cows were randomly allocated into 3 groups: Group Control (n=25, 13 Nelore and 12 crossbred), Group FTAI (n=81, 34 Nelore and 47 crossbred) and Group FTAI/CR (n=79, 36 Nelore and 43 crossbred). The hormonal treatment used in Group Control and Group FTAI was identical to those described in Exp. II, except that CIDR® devices were replaced by DIB® (1g progesterone). The cows from Group FTAI/CR received the same hormonal treatment as those from Group FTAI, however, all cases were removed soon after PGF2 α (D9) administration, and returned 54 h afterwards (D11).

Pregnancy was diagnosed by ultrasonography 30 to 40 days after AI (Exp. 1, 2 and 3).

In Exp. I, 45 of 71 heifers from group GP were detected in estrus and 8 of them became pregnant (11.2%). Similar unexpected low pregnancy rates were observed after treatments GPE (11.25%) and PP-GPE (7.5%). A significant part of the non pregnant cows in groups GP (35%), GPE (42.2%) and PP-GPE (46.8%) had a delayed estrus (> 26 days) after AI. Owing to this delay in estrus, blood samples were taken from 20 cows, randomly selected from the 3 groups, and in 80% of them the test for Infective Bovine Rhinotracheitis (IBR) was positive.

In Exp. II, 7 cows from Group Control were excluded because they did not have the CIDR device on Day 9. From the 75 animals left with CIDR, 58 (77.3%) showed estrus after CIDR removal and 31 (41.3%) became pregnant. Pregnancy rate in Group CIDR/FTAI (51.3%) was similar to Control Group, and significantly higher than Group P4100mg (18.0 %) and P450/50mg (15.8%, $p<0.001$).

In Exp. III, due to the fact that there was an interaction between breed and experimental groups, the pregnancy rates were analyzed separately for each breed. In Nelore cows, there was an increase in pregnancy rate in the Group in which the calf were removed (Group FTAI-CR, 69.4%), when compared to Control Group (7.7%) and FTAI (23.5%, $p<0.01$). However, in crossbred cows there was no difference in pregnancy rates among the 3 groups: Control (41%), FTAI (59.6%) and FTAI-CR (55.8%, $p>0.1$).

The results obtained in Exp. 1 indicate that the low pregnancy rates observed in Nelore heifers, were caused, at least in part, to the presence of IBR in the herd. Therefore, new experiments are necessary to test the efficiency of GPE protocol in heifers.

The protocols using progesterone intravaginal device were effective in synchronizing ovulation and originated acceptable pregnancy rates in Nelore cows. However, switching the intravaginal route by intramuscular and/or subcutaneous progesterone administration, significantly decreased pregnancy rates.

The calf removal may improve pregnancy rate in animals treated with protocols in which progesterone intravaginal devices are used, as indicated by the results obtained in Nelore cows (Exp. III).

Keywords: *Bos indicus*, GnRH, artificial insemination, progestagens, calf removal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L; GINTHER, O.J. Effect of progesterone on ovarian follicles emergencies of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J.Reprod.Fertil.*, v.96, p.627-40, 199.

ALILA, H.W.; HANSEL, W. Origin of different cell types in the bovine corpus luteum as characterized by specific monoclonal antibodies. *Biol. Reprod.*, v.31, p.1015-1025, 1984.

BARREIROS, T.R.R.; SENEDA, M.M.; BARUSELLI, P.S.; BALARIN, O.F. Comparação entre ECG e desmame temporário na inseminação artificial em tempo fixo com uso de CIDR em vacas Nelore lactantes. *Ver.Bras.Reprod.Anim.* v.27, n.3, p.418-420, 2003.

BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; PINHEIRO, O.L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. *Ver. Bras. Reprod. Anim.*, v.19, p.9-22, 1995.

BARROS, C.M., FERNANDES, P. Inseminação artificial com tempo fixo em Zebuínos. *Anais do III Congresso Brasileiro das Raças Zebuínas*, p.112-127, 1998.

BARROS, C. M., MOREIRA, M.B.P., FERNANDES, P. Manipulação farmacológica do ciclo estral para melhorar programas inseminação artificial ou de transferência de embriões. *Arq. Fac.Vet. UFRGS, Supl.*26, p.179-89, 1998.

BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, A.R.; TEIXEIRA, A.B.; LA TRINCA. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF₂ α and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.53, p.1121-1134, 2000.

BASILE, J.R.; BENEDITO, V.A. Sincronização do ciclo estral em vacas Nelore com prostaglandina F₂ α analoga (cloprostenol) por via intramuscular. *Ver. Bras. Reprod. Anim.*, v.3, p.7-11, 1980.

BEAL, W.E. Ap'lication of knowledge about corpus luteum function in control of estrus and ovulation in cattle. *Theriogenology*. v.45, p.1399-1411, 1996.

BEG, M.A.; BERGFELT, D.R.; KOT, K.; WILTBANK, M.C; GINTHER, O.J. Follicular fluid factors and granulosa cell gene expression associated with follicle deviation in cattle. *Biology of Reproduction*, v.64, p.432-441, 2001.

BELLOWS, R.A.; SHORT, R.E. Reproductive losses in beef industry. *In: FIELDS, J.M.; SAND, R.S. Factors affecting calf crop.* Boca Raton: CRC Press. Inc p.109-133, 1994.

BLOKEY, M.A. Sheep and cattle mating behavior. *Ver. Rural. Sci.*, v.4, p.53-62, 1980.

¹ UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Coordenadoria Geral de Bibliotecas. *Normas para publicações da UNESP.* São Paulo: Editora UNESP, 1994, v.2: Referências bibliográficas.

BO, G.A.; NASSER, L.F.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT R.J. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*. v40, p.225-239, 1993.

BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; CACCIA, M.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, J. Follicular wave dynamics after estradiol-17 β treatment of heifers with or without a progestagen implant. *Theriogenology*, v.41, p.1555-1569, 1994.

BO, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* V39, p.193-204, 1995.

BÓ, G.A.; GREG, A.P.; MAPLETOFT, R.J. Dinámica Folicular Ovárica en el Bovino. In: *Simpósio sobre Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes*. Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, 2000, 332p.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; TRIBULO, R. Tratamentos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primeira Parte. *Taurus*, , v.14, p.10-21, 2002a.

BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; TRIBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminacion artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina: Segunda Parte. *Taurus*. V15, p.17-32, 2002b.

BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in Bos Indicus cattle. *Animal Reproduction Science*. V.78, p.307-326, 2003.

BRADEN, T., BAMBONI, F.; NISWENDER, G.D. Effects of PGF $_{2\alpha}$ -induced luteolysis on the populations of cells in the ovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v.39, p.245-53, 1988.

BROWN, J.L.; REEVES, J.J. Absence of specific luteinizing hormone realising hormone receptors in ovine, bovine and porcine ovaries. *Biol. Reprod.*, v. 29, p.1179-84, 1983.

BURKE, J.M.; DE LA SOTA, R.L.; RISCO, C.A.; STAPLES, C.R.; SCHIMMITT, E.J.P.; THATCHER, W.W. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.1385-93, 1996.

BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GASSER, C.L.; GRUN, D.E.; DAY, M.L. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. *Theriogenology*. v.60, p.647-658, 2003.

CAFFREY, J.; NETT, T.M.; ABEL, J., NISWENDER, G.R. Activity of 3- β -hydroxy-delta steroids dehydrogenase/delta delta-isomerase in the ovine corpus luteum. *Biol.Reprod.*,v.20, p.279-87, 1979.

CAMPBELL, B.K.; MANN, G.E.; MCNEILLY, A.S. Pulsatile secretion of inhibin, oestradiol and androstenedione by the ovary of the sheep during the oestrus cycle. *J.Endocrinol.*v.126, p.385-93, 1990.

CASSAR, C.A.; DOW, M.P.D.; PURSLEY, J.R.; SMITH, G.W. Effect of the prevulatory LH surge on bovine follicular progesterone receptor mRNA expression. *Domestic Animal Endocrinology*. v.22, p.179-187, 2002.

CASTILHO, C.; DAYAN, A.; BARROS, C.M. Responsiveness of Nelore cows corpus luteum to PGF_{2α}, administered intramuscularly or via submucosa vulvar. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v.25, p.205, 1997 (abstract).

CASTILHO, C.; GAMBINI, A.L.G.; FERNANDES, P. TRINCA, L.A.; TEIXEIRA, A.B.; BARROS, C.M. Synchronization of ovulation in crossbred dairy heifers using gonadotrophin-releasing hormone agonist, prostaglandin F_{2α} and human chorionic gonadotrophin or estradiol benzoate. *Braz J Med Biol Res*. V.33, p.91-101, 2000.

CAVALIERI, J.; RUBIO, L.; KINDER, J.E.; ENTWISTLE, K.W.; FITSPATRICK, L.A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. *Theriogenology*, v.47, p.801-814, 1997.

CHEGINI, N.; LEI, Z.M.; RAO, C.V. Nuclear volume and chromatin conformation of small bovine luteal cells effect of gonadotropins and prostaglandins and dependence on luteal phase. *Cell Tissue Res.*, v.264, p.453-460, 1991.

CHENAULT, J.R.; KRATZERT, D.D.; RZEPKOWSKI, R.A.; GOODWIN, M.C. LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology*, v.34, p.81, 1990.

CHENAULT, J.R. Pharmaceutical control of estrous cycles. In: LARGE DAIRY HERD MANAGEMENT. H.H. Van Horn and C.J. Wilcox, Am. Dairy Sci. Assoc., Savoy, I.L., p153, 1992.

CHRISTIAN, R.E.; CASIDA, L.E. The effect of progesterone in altering the estrus cycle of the cow. *J. Anim. Sci*, v.7, p.540, 1948, Abstr.

CLARKE, J.J.. GnRH secretion. In: *International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination*, 5, 1988. Anais... Dublin, 1988, p.1-9.

CONN, P.M.; CROWLET, W.F.; JR. Gonadotropin-releasing hormone and its analogues. *N. Engl. J. Med.*, v.323, p.56, 1990.

CONNOR, H.C.; HOUGHTON, P.L.; LEMENAGER, R.P.; MALVEN, P.V.; PARFET, J.R.; MOSS, G.E. Effect of dietary energy, body condition and calf removal on pituitary gonadotropins, gonadotropins-releasing hormone (GnRH) and hypothalamic opioids in beef cows. *Domest. Anim. Endocrinol.* V7, p.403-411, 1990.

CROWE, M.A.; GOUDING, D.; BAGUISI, A.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Induced ovulation of the first postpartum dominant follicle in beef suckler cows using a GnRH analogue. *J. Reprod. Fertil.*, v.99, p.551-5, 1993.

CUTAIA, L.; TRIBULO, R.; ALISIO, L.; TEGLI, J.C.; MORENO, D.; BÓ, G.A. Efecto de los tratamientos con dispositivos DIV-B nuevos o reutilizados en los índices de preñez en vacas e vaquillonas inseminadas a tiempo fijo (IATF). M.Caccia (Ed). *Resúmenes*: Cuarto Simposio Internacional de Reproducción Animal. Huerta Grande, Córdoba, p.244, 2001 (Abstract).

DAVIS, J.; ALILA, H.W.; WEST, L.A.; CORRADINO, R.A.; HANSEL, W. Acute effects of $\text{PGF}_{2\alpha}$ on inositol lipid hydrolysis in the large and small cells of the bovine corpus luteum . *Mol.Cell. Endocrinol.*, v.58, p.43-50, 1988.

DU MESNIL DU BUISSON , F. Controle mutuel l'uterus et de lovarie chez la truie.(Abstract). *Ann. Zootech*, 159, Suppl:147, 1993.

DUNCAN, R.; DAVIS, J. $\text{PGF}_{2\alpha}$ stimulates inositol 1,4,5-triphosphate and inositol 1,3,4,5,-tetraphosphate formation in bovine luteal cells. *Endocrinology*, v.128, p.1519-26, 1991.

DUNLAP, S.E.; KISER, T.E.; COX, N.M.; THOMPSON, F.N.; RAMPACEK, G.B.; BENYSHEK, L.L.; KRAELING, R.R. Cortisol and luteinizing hormone after adrecocorticotropic hormone administration to postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.*, v52, p.587-593, 1981.

DUNN, R.T.; SMITH, M.F.; GARVERICK, H.A.; FOLEY, C.W. Effect of 72 h calf removal and/or gonadotropin releasing hormone on luteinizing hormone release and ovarian activity in postpartum beef cows. *Theriogenology*. v.23, p.767-776, 1985.

EDWARDS, S.; ROCHE, J.F.; NISWENDER, G.D. Response of suckling beef cows to multiple, low doses injections of GnRH with or without progesterone. *J. Reprod. Fertil.*, v.69, p.65-72, 1983.

EINER JENSEN, N.; MCCracken, A.J. Physiological aspects of corpus luteum blood flow and of the counter current system in the ovarian pedicle of the sheeps. *Acta Vet. Scand*, v.77, p.89-101, 1981.

ESCOBEDO, F.; ENCISO, A.; GOMEZ, G.; SISNEROS, E.; COPUY, A.; CALLEGOS, J.; KINDER, J.E.; GARCIA-WINDER, M. Norgestomet induces estrous but not ovulation in prepubertal Bos Taurus X Bos indicus. *J. Anim. Sci.*, v,67, p.410-, 1989.

ESSLEMONT, R.J.; GLENCROSS, R.G.; BRYANT, M.J.; POPE, G.S. A quantitative study of pre-ovulatory behavior in cattle (British Friesian heifers). *Appl. Anim. Ethol.*, v.6, p.1-17, 1980.

EVANS, G.; MAXWELL, W.M.C. *Salamon's artificial insemination of sheep and goats*. 1 ed. Sydney: Butterworths, 1987, 194p.

EVANS, A.C.O.; ADAMS, G.P.; RAWLINGS, N.C. Follicular and hormonal development in prepubertal heifers from 2 to 36 weeks of age. *J. Reprod. Fertil.*, v.103, p.463-70, 1994.

FAIRCLOUGH, R.J.; MOORE, L.G.; McGOWAN, L.T.; PETERSON, A.J.; SMITH, J.F.; TERVITT, H.R.; WATKINS, W.B. Temporal relationship between plasma concentrations of 13,14-dihydro-15-keto-prostaglandin F and neurophysin I/II around luteolysis in sheep. *Prostaglandins*. V.20, p.199-208, 1980.

FARIN, C.E.; MOELLER, C.L.; SAWYER, H.R.; GAMBONI, F.; NISWENDER, G.D. Morphometric analysis of cell types in the ovine corpus luteum throughout the estrous cycle. *Biol. Reprod.*, v.35, p.1299-1308, 1986.

FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A.B.; CROCCI, A.J.; BARROS, C.M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist, $\text{PGF}_{2\alpha}$ and estradiol benzoate (EB). *Theriogenology*, v.55, p.1521-1532, 2001.

FIELDS, M.J.; DUBOIS, W.; FIELDS, P.A. Dynamic features of luteal granules ultrastructural changes during the course of pregnancy in the cow. *Endocrinology*, v.117, p.1675-82, 1985.

FIELDS, M.J.; BARROS, C.M.; WATKINS, W.B.; FIELDS, P.A. Characterization of large luteal cells and their secretory granules during the estrous cycle of the cow. *Biol. Reprod.*, v.46, p.535-45, 1992.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L.; ROCHA, G. Ondas de crescimento folicular em novilhas Nelore durante ciclo estral induzido por PGF_{2α}. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 23, 1994, Olinda. *Anais...* Recife: Asa Gráfica e Editora, 1994, p.586.

FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L.; SOLER, J.M.P. Ovarian follicular dynamics in Nelore Breed (*Bos indicus*). *Theriogenology*, v.47, p.1489-505, 1997.

FIGUEIREDO, R.A. **Tratamentos hormonais para viabilizar a inseminação artificial com tempo predeterminado em vacas e novilhas da raça Nelore.** Botucatu, 2002, 84p. dissertação (doutorado em Medicina Veterinária, Área Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K.; KINDER, J.E.; LEWS, P.E.; SHORT, R.E.; HAFS, H.D. Estrus and luteal function in suckled cows that were anestrous when treated with na intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. *J. Anim. Sci.*, v.75, p.2009-15, 1997.

FIRMINO NETO, J.E.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F.; ALVES, J.D.R.; CHIAMENTI, A. Associação entre progestágenos e desmame temporário nos pós parto de vacas Nelore com cria ao pé. *Ver. Bras.Reprod.Anim.* v.23, n.3, p.340-341, 1999.

FITZ, T.A.; MAYAN, M.H.; STAWYER, H.R.; NISWENDER, G.D. Characterization of two steroidogenic cell types in the corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v.27, p.703-11, 1982.

FLINT, A.P.F., SHELDRIK, E.L. Ovarian secretion of oxytocin is stimulated by prostaglandin. *Nature*, v.297, p.587-8, 1982.

FONSECA, F.A.; BRITT, J.H.; KOSUGIYAMA, M.; RITCHIE, H.D.; DILLARD, E.U. Ovulation, ovarian function and reproductive performance after treatments with GnRH in postpartum beef cows. *Theriogenology*, v.13, p.171, 1980.

FORTUNE, J.E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Bio. Reprod.*, v.50, p.225-32, 1994.

FORTUNE J.E.; RIVERA G.M.; EVANS, A. C.º; TURZILLO, A.M. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biology of Reproduction.* v., p.648-654, 2001.

GALINA, C.S.; ARTHUR, G.H.; Review on cattle reproduction in the tropics. Part4. Oestrus cycles. *Anim. Breed. Abst.*, v.58, p.697-707, 1990.

GAMBINI, A.L.G.; MOREIRA, M.B.P., CASTILHO, C.; BARROS, C.M. Follicular dynamics and synchronization of ovulation in Girolando cows. *Biol.Reprod.*, v.56, p.195, 1997 (abstract).

GEARY, T.W.; WHITTIER, J.C.; HALLFORD, D.M.; MACNEIL, M.D. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *J.Anim.Sci.* v.79, p.1-4, 2001.

GINTHER O.J.; DEL CAMPO, C.H. Vascular anatomy of the uterus and ovaries and the unilateral luteolytic effect of the cattle uterus. *Am. J.Vet. Res.*, v.35, p.193-203, 1974.

GINTHER, O.J. Internal regulation of physiological processes through venoarterial pathways: a review. *J.Anim. Sci.*, v.30, p.550-564, 1974.

GINTHER, O.J. Local versus systemic utero-ovarian relationships in farm animals. *Acta Vet. Scand.* , v.77, p.103-15, 1981.

GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fert.*, v.887, p.223-30, 1989.

GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol.Reprod.*, v.55, p.1187-94, 1996.

GINTHER, O.J. Selection of the dominant follicle in the cattle and horses. *Animal Reproduction Science*, v.60-61, p.61-79, 2000.

GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. Biotécnicas aplicadas à reprodução animal. São Paulo, Livraria Varela, 2001, 340p.

GONZALEZ-PADILHA, E.; NISWENDER, G.D.; WILTBANK, J.N. Puberty in heifers. II. Effect of injections of progesterone and estradiol 17-beta on serum LH, FSH and ovarian activity. *J. Anim. Sci.*, v.40, p.1105-9, 1975.

GORDON, I. Controlled breeding in cattle. Part.1. Hormones in the regulation, oestral control, and set-time artificial insemination. *Anim.Breed. Abst.*, v.44, p.265-75, 1976.

GOODMAN, R.L.; KARSCH, F.J. Pulsatile secretion luteinizing hormone: differential suppression by ovarian steroids. *Endocrinology*. V-107, p.1286-90, 1980.

GUILBAULT, L.A.; LUSSIER, J.G.; GRASSO, F.; MATTON, P. Influence of a GnRH analogue on follicular dynamics in cow pretreated or not with FSH-P. *Theriogenology*, v.33, p.240, 1990.

GUILBAULT, L.A.; VILLENEUVE, P.; LAVERDIERE, G.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. Estrus synchronization in beef cattle using a potent GnRH analog (buserelin) and cloprostenol. *J. Anim. Sci.*, v.69, p.419, 1991.

HAFEZ, E.S.E. *Reproduction in farm animal*. 6 ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 585p. 1993

HANSEL, W. Evaluation of methods for controlling the estrous cycle, In: *Proc, Conf. On Estrus Cycle Control in Domestic Animals*. USDA Misc. Pul. 1005, 1965; p.1-16.

HANSEL, W.; ECHTERNKAMP, S.E. Control of ovarian functions in domestic animals. *Am. Zool.* V.12, p.225-43, 1972.

HANSEL, W., CONVEY, E.M. Physiology of the estrus cycle. *J.Anim.Sci.* v.57, p.404-24, 1983.

HARDIN, D.R.; WARNICK, A.C.; FIELDS, M.J. Artificial insemination of subtropical commercial beef cattle following synchronization with cloprostenol. Estrous response. *Theriogenology*, v.14, p.259-68, 1980.

HERNÁNDEZ, P.P.; WINDER, G.M.; SÁNCHEZ, J.G. Postpartum anoestrus is reduced by increasing the within-day milking to suckling interval in dual purpose cows. *Animal Reproduction and Science*, v.73, p.159-168, 2002.

HIXON, J., HANSEL, W. Preferential transfer of prostaglandin $F_{2\alpha}$ to ipsilateral ovarian artery following intrauterine administration in cattle. *Biol. Reprod.*, v.11, p.543-52, 1974.

HODGEM, G.D. The dominant ovarian follicle. *Fert. Steril.*, v.38, p.281-300, 1982.

HORTON, E.W.; POYSER, N.L. Uterine luteolytic hormone: a physiological role for prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Physiol. Ver.*, v.56, p.595, 1975.

HUNTER, R.H.F.; WILMUT, I. Sperm transport in the cow: peri-ovulatory redistribution of viable cells within the oviduct. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.24, p.597-608, 1984.

HURNIK, J.F. Sexual behavior of female domestic mammals. *Vet.Clin.North Am. Food Anim. Pract.*, v.3, p.423-61, 1987.

INSKEEP, E.K. Potential uses of prostaglandin in control of reproductive cycles of domestic animals. *J. Anim.Sci.*, v.36, p.1149, 1973.

IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Hypotheses regarding development of dominant follicles during a bovine estrous cycle. In: Roche J.F., O' Callaghan, d. (Eds) *Follicular growth and ovulation rate in farm animals*. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, MA, p.1-18, 1987.

IRELAND, J.J.; MILVAE, R.A.; MARTIN, T.L.; ATEN, R.F.; BEHRMAN, H.R. Effect of histone H2a on progesterone production by bovine luteal cells. *Biol. Reprod.*, v.43, p.1058-65, 1990.

JOLLY, P.D.; MACDOUGALL, S.; FITZPATRICK, L.A.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W. Physiological effects of undernutrition on postpartum anoestrus in cows. *J. Reprod. Fert.*, v.49, p.477-92, 1995.

JUENGEL, J.L.; NETT, T.M.; ANTHONY, R.V.; NISWENDER, G.D. Effects of luteotrophic and luteolytic hormones on expression of mRNA encoding insulin-like growth I and hormone receptor in the ovine corpus luteum. *J. Reprod. Fertil.*, v.110, p.291-298, 1997.

KARSCH, F.J. Central actions of ovarian steroids in feed back regulation of pulsatile secretion of luteinizing hormone. *Ann.Ver.Physiol.*, v.49, p.365-82, 1987.

KASTELIC, J.P, OLSON, W.O.; MARTINEZ, M.; MAPLETOFT, R.J. Sincronização do estro em bovinos Hereford-Angus com Crestar. *Ver. Bras. Rep. Animal*, v.21, p.101-3, 1997.

KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular responses in dairy cattle treated with GnRH and cloprostenol. *Can. Vet. J.*, v.39, p.107-9, 1998.

KESLER, D.J.; TROXEL, T.R.; HIXON, D.L.. Effect of a day postpartum and exogenous GnRH on reproductive hormone and ovarian changes in postpartum suckled beef cows. *Theriogenology*, v.13, p.287, 1980.

KESLER, D.J.; FAVERO, R.J.; TROXEL, T.R. Comparasion of hydron and silicone implants in the bovine norgestimet and estradiol valerate synchronization procedure. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.21, p.475-85, 1995.

KESLER, D.J.; FAVERO, R.J. Estrus synchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. *Agri-Practice*, v.17, p.12-7, 1996.

KESNER, J.S.; CONVEY, E.M.; ANDERSOM, C.R. Evidence that estradiol induces the pre-ovulatory LH surge in cattle by increasing pituitary sensitivity to LHRH and then increasing LHRH release. *Endocrinology*, v.108, p.1386-91, 1981.

KNIGHT, P.G. Roles of inhibin, activins and follistatin in the female reproductive systems. *Frontiers of Neuroendocrinology*, v.17, p.476-509, 1996.

KNOFF, L.; KASTELIC, J.P.; SCHALLENBERGER, E.; GINTHER, O.J. Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v.6, p.111-19, 1989.

LABHSETWAR, A.P.; COLLINS, W.E.; TYLER, W.J.; CASIDA, L.E. Some pituitary-ovarian relationships in the periparturient cow. *J. Reprod. Fertil.* V8, p.85, 1964.

LANDIVAR, C.; GALINA, C.S.; DUCHATEAU, A. Fertility trial in zebu cattle after a natural or controlled estrus with prostaglandin F₂ alpha, comparing natural mating with artificial insemination. *Theriogenology*, v. 23, p.421-7, 1985.

LARSON, L.L.; BALL, P.J.H. Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology*, v.38, p.255-67, 1992.

LAUDERDALE, J.W.; MACALLISTER, J.F.; KRATZER, D.D.; MOODY, E.L. Use of prostaglandin F₂ α in cattle breeding. *Acta Vet. Scand.*, v.77, p.181, 1981.

LOPEZ-BARBELLA, S.; MARTINEZ, L.A.; GAVALDON, L.L. Synchronization of estrous with norgestomet and prostaglandin F₂ α in beef cattle. *Trop. Anim. Prod.*, v.6, p.101-4, 1981.

LOWMAN, B.G.; SCOTT, N.A.; SOMERVALLE, S.H. Condition scoring of cattle. Edinburgh: *The east of Escotland College of Agriculture*, 1976, p.1-13 (Bulletin, 6).

LUCY, M.C.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; DE LA SOTA, R.L.; THATCHER, W.W. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *J. Anim.Sci.*, v.70, p.3615-26, 1992.

LUQUE, E.H.; HUTTER, J.C.; MONTES, G.S. Regulacion hormonal de los ciclos reproductivos en la vaca. *Ver. Med. Vet.*, v.64, p.190-211, 1983.

MATTON, P.; ADELAKOUN, V.; COUTURE, Y.; DUFOUR, J.J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. *J.Anim.Sci.* v.52, p.813-20, 1981.

MACMILLAN, K.L.; HENDERSON, H.V. Analysis of the variation in the interval from na injection of prostaglandin F_{2α} to estrus as a method of studying patters of follicle development during diestrus in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.6, p.245-54, 1984.

MACMILLAN, K.L.; THATCHER, W.W. Effect of na agonist of gonadotropin releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.*, v.45, p.883-9, 1991.

MACMILLAN, K.L.; TAUFA, V.K.; BARNES, D.R.; DAY, A.M. Plasma progesterone concentrations in heifers and cows treated with a new intravaginal device. *Anim. Reprod. Sci.*, v.26, p.25-40, 1991.

MACMILLAN, K.L. Reproductive management In: AMERICAN DAIRY SCIENCE ASSOCIATION. *Large Dairy Herd management*. Champain (IL), 1992, p.88.

MACMILLAN, K.L., PETERSON, A.J. A new intravaginal progesterone realising device for cattle (CIDR - B) for estrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anestrous. *Anim. Reprod. Sci.*, v.33, p.1-25, 1993.

MACMILLAN, K.L.; TAUFA, V.K.; DAY, A.M. Combination treatments for synchronizing oestrus in dairy heifers. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 11, 1995, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, 1995, p.35-45.

MADUREIRA, E.H.; BARBUIO, J.P.; ARRUDA, R.P.; BERTAN, C.M.; MIZUTA, K.; BRAZZACH, M.L.; BARNABE, R.C.; RODRIGUES, P.H.M. Sincronização do estro em fêmeas bovinas usando acetato de melengestrol (MGA) associado à prostaglandina F_{2α} e o 17β-estradiol. *Ver. Bras. Reprod. Anim.*, v.21, p.94-7, 1997.

MARTINEZ, M.F.; BERGFELT, D.R.; ADAMS, G.P.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization of follicular wave emergence and its use in na estrus synchronization program. *Theriogenology*. v.47, p.145, 1997. Abstr.

MARTINEZ, M.F.; ADAMS, G.P.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology*, v.54, p.757-69, 2000.

MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P.; COOK, R.B.; OLSON, W.O.; MAPLETOFT, R.J. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. *Theriogenology*. v.57, p.1049-1059, 2002.

MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J. The use of a progesterone-realising device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J. Anim. Sci.* v.80, p.1746-1751, 2002.

McCRACKEN, J.A.; CUSTER, E.E.; ELDERING, J.A.; ROBINSON, A.G. The central oxytocin pulse generator: a pacemaker for ovarian cycle. *Acta Neurobiol. Exp. (Warsz)*.v.56, p.819-832, 1996.

MCGOWAN, M.R. Sincronización de celos y programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado *Bos indicus* y cruza *Bos indicus* .In: Resumes Tercer Simposio International de Reproduction Animal, Carlos Paz, Córdoba, Argentina, p.71-82, 1999.

McGUIRE, W.J.; JUENGEL, J.L.; NISWENDER, G.D. Protein Kinase C second messenger system mediates the antisteroidogenic effects of prostaglandin F_{2α} in the ovine corpus luteum in vivo. *Biol.Reprodu.* v.51, p.800-806, 1994.

MENEGHETTI, M.; VILELA, E.R.; VASCONCELOS, J.L.M.; CERRI, R.L.A.; FERREIRA, Jr.N. Efeito da remoção dos bezerros nos folículos dominante e na taxa de ovulação ao primeiro GnRH em protocolos de sincronização em vacas Nelore em anestro. *Ver. Bras. Reprod.Anim.*v.25, n.3, p.286-288, 2001.

MILLER, J.M. The effects of IBR virus infection on reproductive function of cattle. *Veterinary Medicine.* jan. p. 95-98, 1991.

MILVAE, R.A.; HANSEL, W. Prostacyclin, PGF_{2α} and progesterone production by bovine corpus luteum during the estrous cycle. *Biol. Reprod.*, v.29, p.1063-8, 1983.

MILVAE, R.A.; HINCKLEY, S.T.; CARLSON, J.E. Luteotropic and luteolytic mechanisms in the bovine corpus luteum. *Theriogenology*, v.45, p.1327-43, 1996.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de LH, FSH, Progesterona e Estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas Nelore (*Bos taurus indicus*), Angus (*Bos taurus taurus*) e Nelore x Angus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*).** São Paulo, 2003, 98p. dissertação (doutorado em Reprodução Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Departamento de Reprodução Animal – Universidade de São Paulo.

MOREIRA, M.B.P. **Sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore.** Botucatu, 1997. 81p. dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Instituto de Biociências – Universidade Estadual Paulista.

MOREIRA, R.J.C. **Uso do protocolo CRESTAR® em tratamentos utilizando benzoato de estradiol, PGF_{2α}, PMSG e GnRH para controle do ciclo estral e ovulação em vacas de corte.** Piracicaba, 2002, 48p. dissertação de mestrado (Mestre em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz – Universidade de São Paulo.

MUNRO, R.K. Concentrations of plasma progesterone in cows after treatment with 3 types of progesterone pessaries. *Aust. Vet. J.* v64, p.385-386, 1987.

MUKASA-MUGERWA, E. A review of reproductive performance of female *Bos indicus* (Zebu) cattle. *ILCA monog.* v.6, p. 1-34, 1989.

MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckler cows. *J.Reprod.Fert.* v.90, p.523-33, 1990.

NETT, T.M.; McCLEALLAN, M.; NISWENDER, G.D. Effects of the prostaglandins in the ovine corpus luteum blood flow, secretion of progesterone and morphology. *Biol. Reprod.*, v.15, p.66-78, 1976.

NETT, T.M. Function of the hypothalamic-hypophysial axis during the post-partum period in ewes and cows. *J. Reprod. Fertil.* V34, p.201-213, 1987, Suppl.

NETT, T.M.; CERMAK, D.; BRADEN, T.; MANNS, J.; NISWENDER, G. Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. I. Changes during the estrous cycle. *Domest Anim Endocrinol*. V4, p.123-132, 1987.

NETT, T.M.; CERMAK, D.; BRADEN, T.; MANNS, J.; NISWENDER, G. Pituitary receptors for GnRH and estradiol, and pituitary content of gonadotropins in beef cows. II. Changes during postpartum period. *Domestic Anim. Endocrinol*. V5, p.81-89, 1988.

NILSSON, E.; PARROTT, J.A.; SKINNER, M.K. Basic fibroblast factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. v.175, p.123-130, 2001.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci*. V.68, p.817-30, 1990.

ORWIG, K.E.; GERTRAND, J.E.; BOR-RUNG, O.; FORSBEG, N.E.; STORMSHAK, F. Involvement of protein kinase C, calpains, and calpastatin in PGF₂ α -induced oxytocin secretion from the bovine corpus luteum. *Endocrinology*, v.134, p.78-83, 1994.

O'ROURKE, M.; DISKIN, M.G.; SREENAN, J.M.; ROCHE, J.F. The effect of dose and route of estradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Animal Reproduction Science*, v.59, p.1-12, 2000.

OYEDIPE, E.O.; VOH, A.A.; MARIRE, B.N. Plasma progesterone concentrations during the oestrus cycle and following fertile and non-fertile inseminations of zebu heifers. *Br. Vet. J.*, v.142, p.41-6, 1986.

PATTERSON, D.J.; GAY, N.; BURRIS, W.R.; MIKSCH, E.D. Evidence of improved fertility in postpartum suckled beef cows fed melengestrol acetate (MGA) prior to a double injection prostaglandin F₂ α treatment. *J. Anim. Sci*. V.68 (Suppl.1), abstr., p.487, 1990.

PECK, D.D.; THOMPSON, F.N.; JERNIGAN, A.; KISER, T.E. Effect of morphine on serum gonadotrooooooropin concentrations in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci*. V66, p.2930-2936, 1988.

PEIXOTO, A.M. Índices de Produtividade da Pecuária de Corte. In: PEIXOTO, A.M., MOURA, J.C., FARIA, V.P. *Bovinocultura de Corte: fundamentos da exploração racional*. Piracicaba: Fealq, 1993, p.01-22.

PETERS, A.R.; LAMMING, G.E.; FISHER, M.W. A comparison of plasma LH concentrations in milked and suckling post-partum cows. *J. Reprod. Fertil*. V62, p.567-573, 1981.

PETTERSON, A.J.; HENSERSON, H.C. Plasma progesterone concentrations in ovariectomized dairy cows treated with a CIDR-B breedin devide. *J. Reprod. Fertil*. V43, p.315, 1990, Suppl.

PIERSON, R.A.; GINTHER, O.J. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*. v.29, p.21-37, 1988.

PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEREDO, R.A.; VALLE, E.R.; ENCARNÇÃO, R.; PADOVANI, C.R. Estrus behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle 9Bos

indicus) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin $F_{2\alpha}$ or norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, v. 49, p.667-81, 1998.

POWELL, W.S.; HAMMERSTROM, S.; SAMUELSSON, B. Localization of a $PGF_{2\alpha}$ receptor in bovine corpus luteum plasma membranes. *Eur. J. Biochim.*, v.61, p.605-11, 1976.

PRICE, C.A.; WEBB, R. Steroid control of gonadotropin secretion and ovarian function in heifers. *Endocrinology*. V-122, p.2222-31. 1988.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; BROWN, M.D.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and $PGF_{2\alpha}$. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.230, 1994.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and $PGF_{2\alpha}$. *Theriogenology*, v.44, p.915-23, 1995.

PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; STEVENSON, J.S.; OTTOBRE, J.S.; BARVERICK, H.A.; ANDERSON, L.L. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Anim.Sci.*, v.80, p.295-300, 1997a.

PURSLEY, J.R.; KOSOROK, M.R.; WILTBANK, M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.295-300, 1997b.

RAHE, C.H.; OWENS, R.E.; FLEEGER, J.L.; NEWTON, H.J; HARMS, P.G. Patterns of luteinizing hormone in the cycling cow dependence upon period of the cycle. *Endocrinology*. v.107, p. 498-503, 1980.

RAJAMAHENDRAN, R.; TAYLOR, C. Follicular dynamics and temporal relationships among body temperature, oestrus, the surge of hormone luteinizing and ovulation in Holstein heifers treated with norgestomet. *J.Reprod. Fertil.*v.92, p.461-7, 1991.

RAMIREZ-GODINEZ, J.A.; KIRACOFÉ, G.H.; MCKEE, R.M.; SCHALLES, R.R.; KITTOCK, R.J. Reducing the influence short estrous in beef cows with norgestomet. *Theriogenology*, v.15, p.613-23, 1981.

RAO, C.V.; IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Decrease of various luteal enzyme activities during $PGF_{2\alpha}$ induced luteal regression in the bovine. *Mol.Cell.Endocrinol.*, v.34, p.99-105, 1984.

RATHBONE, M.J.; MACMILLAN, K.L.; INSKEEP, K.; BURGGRAAF, S.; BUNT, C.R. Fertility regulation in cattle: A review. *Journal of Controlled Release*, v.54, p.117-148, 1998.

RETTMER, I.; STEVENSON, J.S.; CORAH, L.R. Endocrine responses and ovarian changes in inseminated dairy heifers after an injection of a GnRH agonist 11 to 13 days after estrus. *J. Anim. Sci.*, v.70, p.508-17, 1992.

RICE, C.A. The control of FSH secretion in the larger domestic species. *J.Endocrinol.*, v.131, p.177-84, 1991.

ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W.; STUMPF, T.T.; KITTOCK, R.J.; KINDER, J.E. Luteinizing hormone secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. *Biol. Reprod.*, v.41, p.997-1003, 1989.

ROCHE, J.F.; CROWE, M.A.; BOLAND, M.P. Postpartum anestrus in dairy and beef cows. *Ani. Reprod. Sci.*, v.28, p.371-8, 1992.

RODGERS, R. Cell-cell communication in corpora lutea. *Reprod. Fert. Dev.*, v.2, p.281-9, 1990.

ROY, G.L.; TWAGIRAMUNGU, H. Time interval between GnRH and PGF injections influences the precision of estrus in synchronized cattle. *Theriogenology*. v.51, p.413, 1999 (Abstract)

ROWSON, L.E.A.; TERVIT, R.; BRAND, A. The use of prostaglandin for synchronization of estrus in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, v.29, p.145, 1972.

SAKAMOTO, K.; MIWA, K.; EZSHI, T. Expression of mRNA encoding the PGF₂ α receptor in bovine corpora lutea throughout the oestrus cycle and pregnancy. *J.Reprod. Fertil.*, v.103, p.99-105, 1995.

SANTIAGO, A.A. *O Zebu na Índia, no Brasil e no mundo*. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1985, 706p.

SANTOS, M.D.; RIBAS, J.A.; GASPAROTO, G.; ALBERT, Z.A.; CAMARGO, L.M. Percentual de estro e taxa de gestação de vacas da raça Nelore sincronizadas com CIDR-B. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*.v25, 308-310, 2001.

SANTOS, R. *Nelore: avitória brasileira*. Uberaba: Editora Agropecuária Tropical, 1995, 391p.

SANZ, A.; CASASÚS, I.; VILLALBA, D.; REVILLA, R. Effects of suckling frequency and breed on productive performance, follicular dynamics and postpartum interval in beef cows. *Ani. Reprod. Sci.* V79, p.57-69, 2003.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrus cycle of heifers. *J.Reprod. Fert.*, v.83, p.663-71, 1988.

SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M.R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing intravaginal device on follicular turnover and fertility in cattle. *J.Reprod.Fertil.* v.98, p.77-84, 1993.

SASSER, R.G.; FALK, D.E.; ROSS, R.H. Estrogen in plasma of parturient periparturient and normal cows. *J. Dairy Sci.*, v.62, p.551-556, 1979.

SENGER, P.L. The estrus detection problem: New concepts, technologies and possibilities. *J. Dairy Sci.* V.72, p.2745-52, 1994.

SCHIMITT, E.J.P.; DIAZ, T.C.; DROST, M.; ROOMES, C.; THATCHER, W.W. Use of a GnRH agonist on human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.*, v.74, p.1084-91, 1996.

SCHOENEMANN, H.M., HUMPHREY, W.D., CROWDER, M.E., NETT, T.M., REEVES, J.J. Pituitary luteinizing hormone releasing receptors in ovariectomized cows after challenge with ovarian steroids. *Biol.Reprod.* v.32, p.574-83, 1985.

SHIVELY, T.E.; WILLIAMS, G.L. Patterns of tonic luteinizing hormone release and ovulation frequency in suckled anestrous beef cows following varying intervals of temporary weaning. *Domest. Anim. Endocrinol.*, v6, p.379-387, 1989.

SHEMESH, M.; HANSEL, W. Levels of PGF₂ α in bovine endometrium uterine venous, ovarian arterial na jugular plasma during the estrous cycle. *Proc. Soc. Exp. Biol.Med.*, v.148, p.123-126, 1975.

SHORT, R.E.; BELLOWES, R.A.; STAIGMILLER, R.B.; BERARDINELLI, J.G.; CUSTER, E.E. Physiological mechanisms controlling anestrus and fertility in postpartum beef cattle. *J. Anim. Sci.*, v.68, p.799-806, 1990.

SHUPNIK, M. A. Gonadotropin gene modulation by steroids and gonadotropin-releasing hormone. *Biology Reproduction*. v-54, p.279-86, 1996.

SILCOX, R.W.; POWELL, K.L.; KISER. T.E. Ability of dominant follicle (DF) to respond exogenous GnRH administration is dependent on their stage of development. *Journal of Animal Science*, v.71, p.219, 1993 (Abstract).

SIROIS, J., FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by Real-Time Ultrasonography. *Biol. Reprod.*, v.39, p.308-17, 1988.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Lengthening of the bovine oestrus cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. *Endocrinology*, v.127, p.916-25, 1990.

SMITH, R.D.; POMERANZ, A.J.; BEAL, W.E.; MCCANN, J.P.; PILBEAM, T.E.; HANSEL, W. Insemination of Holstein heifers at a present time after estrus cycle synchronization using progesterone and prostaglandin. *J. Anim. Sci.*,v.58, p.792, 1984.

SMITH, M.F.; CHENAULT, J.R.; MCALLISTER, J.F.; LAUDERDALE, J.W. Response of post partum beef cows to exogenous progestogens and gonadotropin releasing hormone. *J. Anim. Sci.*, v.64, p.540, 1987.

STABENFELDT, G.H.; OSBURN, B.I.; EWING, L.L. Peripheral plasma progesterone levels in the cow during pregnancy and parturition. *Am. J. Physiol.* V218, p.571-575, 1970.

STANISLAUS,D.; PINTER, J.H.; JANOVICK, J.A.; CONN, P.M. Mechanisms mediating multiple physiological responses to gonadotropin-realising hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology*. V-144, p.1-10, 1998.

STEVENSON, J.S.; PHATAK, A.P.; RETTMER, I. Post-insemination administration of receptal: follicular dynamics, duration of cycle, hormonal responses, and pregnancy rates. *J. Dairy Sci.*, v.76, p.2536-47, 1993.

STEVENSON, J.S.; SMITH, M.W.; JAEGER, J.R. Detection of the estrus by visual observation and radiotelemetry in perbupertal, estrus synchronized beff heifers. *J.Anim.Sci.* v.74, p.729-35, 1996.

STOCK, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*, v.132, p.1108-16, 1993.

SUH, D.Y.; HUNT, T.K.; SPENCER, M. Insuline-like growth factor I reverses the impairment of wound healing induced by corticosteroids in rats. *Endocrinology*, v.131, p.2399-2403, 1992.

TANABE, T.Y.; HAHN, R.C. Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F_{2α}. Influence of stage of cycle at treatment. *J. Anim. Sci.*, v.58, p.805-11, 1984.

TAYLOR, C., RAJAMAHENDRAM, R. Follicular dynamics and corpus luteum growth and function pregnant versus nonpregnant dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v-74, p.115-23, 1991.

THATCHER, W.W.; CHENAULT, J.R. Reproductive physiological responses of cattle to exogenous prostaglandin F_{2α}. *J. Dairy Sci.*, v.59, p.1366-75, 1976.

THATCHER, W.W.; MACMILLAN, K.L.; HANSEN, P.J.; DROST, M. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, v.31, p.149-64, 1989.

THATCHER, W.W.; DROST, M.; SAVIO, J.D.; MACMILLAN, K.L.; ENTWISTLE, K.W.; SCHIMITT, E.J.; DE LA SOTA, R.L.; MORRIS, G.R. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.33, p.27-49, 1993.

TROXEL, T.R.; CRUZ, L.C.; OTT, R.S.; KESLER, D.J. Norgestomet and gonadotropin-releasing-hormone enhance corpus luteum function and fertility of postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.71, p.2570-85, 1993.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J.; VILLEUVE, P.; DUFOUR, J.J. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*, v.38, p.1131-44, 1992a.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J.; VILLEUVE, P.; DUFOUR, J.J. Influence of na agonist of Gonadotropin-Releasing Hormone (Buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.70, p.1904-10, 1992b.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.1796, 1994.

TWAGIRAMUNGU, H.; GUILBAULT, L.A.; DUFOUR, J.J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, v.73, p.3141-51, 1995.

VACA, L.A.; GALINA, C.; FERNANDEZ, B.S. Oestrus cycle, oestrus and ovulation of the zebu in the Mexican tropics. *Vet. Rec.*, v.117, p.434-7, 1985.

VAN DEN HURK, R; ZHAO, J. Regulação do crescimento oocitário e maturação em mamíferos. *Acta Scientiae Veterinariae*. Suplemento 31, p.172-189, 2003.

VAN DER MAATEN, M.J.; MILLER, J.M. Ovarian lesions in heifers exposed to infectious bovine rhinotracheitis virus by non genital routes on the day after breeding. *Veterinary Microbiology*, v.10, p.155-163, 1985.

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

VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; DE SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in zebu cattle. *Pesq. Agropec. Bras.* V.35, n.12, p.2501-2509, 2000.

XIÃO, S.; ROBERTSON, D.M.; FINDLAY, J.K. Effects of activin and FSH-suppressing protein/folistatin on FSH receptors and differentiation of cultured rat granulosa cells. *Endocrinology*, v.131, p.1009-16, 1992.

XU, Z.Z.; BURTON, L.J. Reproductive performance of post-partum anoestrus dairy cows treated with progesterone and estradiol benzoate. *N. Z. Vet. J.*, v.45, p.213-4, 1997.

ZIMBELMAN, R.G.; LAUDERDALE, J.W.; SOKOLOWSKI, J.H.; SCHALK, T.G. Safety and pharmacologic evaluations of melengestrol in cattle and other animals: a review. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, v.157, p.1528-36, 1970.

ZOLLERS, W.G.Jr.; GARVERICK, H.A.; YOUNGQUIST, R.S.; OTTOBRE, J.S.; SILCOX, R.W.; COPELIN, J.P.; SMITH, M.F. In vitro secretion of prostaglandins from endometrium of postpartum beef cows expected to have short or normal luteal phases. *Biol. Reprod.* V44, p.522-526, 1991.

ZOLLERS, W.G.Jr.; GARVERICK, H.A.; SMITH, M.F.; MOFFATT, R.J.; SALFEN, B.E.; YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrus cycle. *J. Reprod. Fertil.* V.97, p.329-337, 1993.

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

WALTERS D.L.; SHORT, R.E.; CONVEY, E.M.; STAIGMILLER, R.B.; DUNN, T.G.; KALTENBACH, C.C. Pituitary and ovarian function in postpartum beef cows. III. Induction of estrus, ovulation and luteal function with intermittent small dose injections of GnRH. *Biol. Reprod.* V26, p.655-662, 1982.

WALTERS, D.L.; SMITH, M.F.; HARMS, P.G.; WILTBANK, J.N. Effect of steroids and 48 hr calf removal on serum luteinizing hormone concentrations in anestrous beef cows. *Theriogenology*, v.18, p.349-356, 1982.

WATHES, D.C., SWANN, R.W., BIRKETT, S.D., PORTER, D.G., PICKERING, B.T. Characterization of oxytocin, vasopressin and neurophysin from the bovine corpus luteum. *Endocrinology*, v.113, p.693-8, 1983.

WATHES , d.c; SWANN, R.W., PICKERING, B.T. Variations in oxytocin, vasopressin and neurophysin concentrations in the bovine ovary during oestrus cycle and pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* V.71, p.551-7, 1984.

WEBB, R.; LAMMING, G.E.; HAYNES, N.B.; FOXCROFT, G.R. Plasma progesterone and gonadotrophin concentrations and ovarian activity in post-partum dairy cows. *J. Reprod. Fertil.* V59, p.133-143, 1980.

WEBB, R.; WOAD, K.J.; ARMSTRONG, D.G. Corpus luteum (CL) function: local control mechanisms. *Domestic Animal Endocrinology*, v. 23, p.277-285, 2002.

WHISNANT, C.S.; KISER, T.E.; THOMPSON, F.N.; BARB, C.R. Opioid inhibition of luteinizing hormone secretion during the postpartum period in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* v63, p.1445-1448, 1986.

WILLIAMS, G.L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* V68, p.831-852, 1990.

WILLIAMS, G.L. Mammary somatosensory pathways are not required for suckling mediated inhibition of luteinizing secretion and delay of ovulation in cows. *Biol. Reprod.* V49, p.1328-1337, 1993.

WILLIAMS, G.L.; GRIFFITH, M.K. Sensory and behavioural control of gonadotrophin secretion during suckling-mediated anovulation in cows. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* V49, p.463-475, 1995.

WILLIAMS, S.W.; STANKO, R.L.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G.L. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus* influenced cattle managed on the Texas gulf coasts. *J. Anim. Sci.* V80, p.1173-1178, 2002.

WILTBank, J.N.; INGALLS, J.E.; ROWDEN, W.W. Effects of various forms and levels of estrogens alone or in combination with gonadotrophins on the estrous cycle of beef heifers. *J. Anim. Sci.*, v.20, p.341-346, 1961.

WILTBank J.N.; ZIMMERMAN, D.R.; INGALLS, J.E.; ROWDEN, W.W. Use of progestational compounds alone or in combinations with estrogen for synchronization of estrus. *J. Anim. Sci.*, v.20, p.990-4, 1965.

WILTBank, J.N.; GONZALES-PADILLA, E. Synchronization and induction of estrus in heifers with a progestagen and estrogen. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, v.15, p.255, 1975.

WILTBank, M.C.; SHIAO, T.F.; BERGFELT, D.R. Prostaglandin F_{2α} receptor in the early bovine corpus luteum. *Biol. Reprod.*, v.52, p.74-8, 1995.

WILTBank, M.C.; PURSLEY, J.R.; FRICKE, P.M.; VASCONCELOS, J.; GUENTHER, J.N., GIBBONS, J.R.; GINTHER, O.J. Development of IA and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. In: ANNUAL CONVENTION PORTLAND, 15, 1996, Oregon. *Proceedings...Oregon: American Embryo Transfer Association*, 1996, p.23-44.

WILTBank, M.C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*. v.57, p.21-52, 2002.

WISHART, D.F. Observations on the oestrus cycle of the Friesian heifers. *Vet. Rec.*, v.90, p.595-7, 1972.

WISHART, D.F., YOUNG, I.M. Artificial insemination of progestin (SC21009) treated cattle at predetermined times. *Vet. Rec.*, v.45, p.503, 1974.

WOLFENSON, D.; THATCHER, W.W.; SAVIO, J.D.; BADINGA, L.; LUCY, M.C. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. *Theriogenology*, v.42, p.633-44, 1994.

WOOLUMS, A.R.; PETER, A.T. Cystic ovarian condition in cattle: Part I. Folliculogenesis and ovulation. *Compend. Cont. Educ. Article*. V.16, p.935-43, 1994.

WRIGHT, P.J.; MALMO, J. Pharmacological manipulation of fertility. *Appl. Food. Anim.Pract.* v.8, p.57-89, 1992.

ZIMBELMAN, R.G.; LAUDERDALE, J.W.; SOKOLOWSKI, J.H.; AND SCHALK, T.G. Safety and pharmacological evaluations of melengestrol acetate in cattle and other animals: A review. *J.Anim. Sci.*, v.157, p. 1528-36, 1970.

YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Induction of ovulation in postpartum suckled beef cows: a review. *Theriogenology*. v.54, p.1-23, 2000a.

YAVAS,Y.; WALTON, J.S. Postapartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology*, v54, p.25-55, 2000b.

YELICH, J.V.; HOLLAND, M.D.; SCHUTZ, D.N.; ODDE, K.G. Synchronization of estrus in suckled postpartum beef cows with melengestrol acetate, 48 hour calf removal and PGF_{2α}. *Theriogenology*. v.43, p.401-410, 1995.