

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

BÁRBARA LUANA WOLLMEISTER

**PUBERDADE E CICLO ESTRAL EM NOVILHA DE CORTE E ESTUDO SOBRE A
INFLUÊNCIA DO eCG EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM
NOVILHAS PRÉ-PÚBERES SINTÉTICAS E TAURINAS**

PORTO ALEGRE

2023/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

PUBERDADE E CICLO ESTRAL EM NOVILHAS DE CORTE

Autora: Bárbara Luana Wollmeister

Trabalho apresentado à Faculdade de Veterinária como requisito parcial para a obtenção da graduação em Medicina Veterinária

Orientador: Prof. Dr. André Gustavo Cabrera Dalto

Coorientadora: M.V. MSc. Gabriella dos Santos Velho

PORTO ALEGRE

2023/2

Wollmeister, Bárbara Luana

PUBERDADE E CICLO ESTRAL EM NOVILHA DE CORTE E ESTUDO SOBRE A INFLUÊNCIA DO eCG EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM NOVILHAS PRÉ-PÚBERES SINTÉTICAS E TAURINAS / Bárbara Luana Wollmeister. -- 2024.

41 f.

Orientador: André Gustavo Cabrera Dalto.

Coorientadora: Gabriella dos Santos Velho.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Curso de Medicina Veterinária, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. ciclo estral. 2. eCG. 3. folículos. 4. novilhas de corte. 5. puberdade. I. Dalto, André Gustavo Cabrera, orient. II. Velho, Gabriella dos Santos, coorient. III. Título.

BÁRBARA LUANA WOLLMEISTER

PUBERDADE E CICLO ESTRAL EM NOVILHAS DE CORTE

Aprovado em 08/02/2024

APROVADO POR:

Prof. Dr. André Gustavo Cabrera Dalto
Orientador e Presidente da Comissão

Gabriella dos santos Velho

M.V. MSc. Gabriella dos Santos Velho
Membro da Comissão

Prof. Dr. Fernando Caetano de Oliveira
Membro da Comissão

M.V. MSc. Fábio de Souza Guagnini
Membro da Comissão

Dedico este trabalho aos meus pais, os dois
maiores incentivadores das realizações dos
meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Janini e Carlos, que sempre com muito amor e muita paciência, mas muita paciência mesmo, me apoiaram, me compreenderam e não mediram esforços para me ajudar a chegar onde estou hoje. Suas orientações, palavras de incentivo e sacrifícios jamais serão esquecidos por mim, sou imensamente agradecida. Vocês são minha inspiração e minha fortaleza.

À toda minha família que me apoiou nessa jornada difícil, mas gratificante.

Aos amigos que a faculdade me proporcionou.

Aos que mesmo distantes continuam sempre presentes comigo, Victória e Felipe, sempre me apoiando, me incentivando e planejando como serão nossas futuras vidas depois de ganharmos na mega sena.

Ao presentinho que uma saída de campo despreziosa me apresentou e desde então não desgradamos mais, Carolina Decimo, sempre disposta a me ajudar, a rir, a cantar, a ser criança comigo para relaxar e sempre ter um olhar positivo do futuro. E que se juntar com a Fernanda ou a Isabela não tem quem nos pare.

Aos colegas mais que especiais do Setor de Grandes Ruminantes, Andressa, Gabriele, Isadora, Kevin, César e Breno, que sempre estão prontos pra qualquer indiada e para qualquer piadinha de quinta série, que me auxiliaram na execução desse trabalho sempre de forma leve.

Por último, expresso minha gratidão aos meus orientadores André, Monique e Gabriella, cuja dedicação em me ajudar, ensinar e orientar, tanto na vida acadêmica quanto na vida pessoal, foi inestimável. Espero um dia poder refletir um pouco do que vocês representam para mim.

RESUMO

O constante crescimento do rebanho bovino brasileiro para atender à demanda do consumo de carne impulsiona a utilização de biotecnologias na reprodução, visando otimizar a produção pecuária. Dentre os objetivos das biotecnologias, destaca-se o controle do ciclo estral e a antecipação da puberdade como estratégias para intensificar a capacidade produtiva. A partir disso, para aumentar a vida reprodutiva das fêmeas, buscou-se estudar a influência do uso de gonadotrofina coriônica equina (eCG) na ciclicidade de novilhas pré-púberes. Portanto, o objetivo da revisão bibliográfica foi fazer um levantamento de tópicos pertinentes às estratégias de indução de puberdade e manipulação do ciclo estral servindo de base para dois estudos experimentais. Diante disso, avaliou-se no primeiro experimento a influência da eCG no crescimento folicular e função luteal de novilhas sintéticas pré-púberes (14 meses) submetidas ao protocolo de para controle do ciclo estral sem o uso de indutor de ovulação. No segundo experimento se verificou o efeito do uso de eCG associado ao protocolo de IATF (com indutor de ovulação) na taxa de concepção de novilhas taurinas (14 meses). A análise estatística foi realizada pelo método de ANOVA e por regressão logística no software estatístico JMP (JMP Statistical Discovery LLC.). Como esperado, o diâmetro do FD no D0 (Controle = $8,35 \pm 0,44$ mm; eCG = $9,18 \pm 0,47$ mm) foi maior ($p=0,002$) em relação ao D-2 (Controle = $7,00 \pm 0,44$ mm; eCG = $6,89 \pm 0,47$ mm) independente do grupo. Não foi observada diferença no diâmetro do FD entre grupos e não houve interação entre grupo e dia ($p=0,44$ e $p=0,32$, respectivamente). Não foi observada diferença estatística na taxa de ovulação ($p=0,26$), diâmetro do CL ($p=0,55$), concentração sérica P_4 ($p=0,40$) e taxa de concepção ($p=0,34$) entre grupos. No entanto, considerando observou-se que somente 53% dos animais do grupo Controle foram observados em estro e inseminados ao final do experimento, comparados a 84% do grupo eCG ($p=0,07$). Além disso, ao final do estudo 100% das novilhas do grupo eCG e 70% do grupo Controle tornaram-se púberes. No Experimento 2, objetivou-se avaliar o efeito do tratamento na fertilidade. 56 novilhas taurinas 14 meses (em transição da puberdade e cíclicas) foram sincronizadas conforme protocolo descrito no Experimento 1, além da administração de 1mg de cipionato de estradiol simultânea à retirada do DIV no D-2. Observou-se efeito altamente significativo ($p=0,001$) na taxa de concepção entre grupos Controle (21,4%; $n=28$) e eCG (60,7%; $n=28$).

Palavras-chave: ciclo estral; eCG; folículos; novilhas de corte; puberdade.

ABSTRACT

The constant growth of the Brazilian cattle herd to meet the demand for meat consumption drives the utilization of biotechnologies in reproduction, aiming to optimize livestock production. Among the objectives of biotechnologies, the control of estrous cycle and the anticipation of puberty stand out as strategies to intensify productive capacity. Consequently, to increase the reproductive lifespan of females, the influence of equine chorionic gonadotropin (eCG) on the cyclicity of prepubertal heifers was studied. Therefore, the objective of the literature review was to survey topics relevant to puberty induction strategies and manipulation of the estrous cycle serving as the basis for two experimental studies. In the first experiment, the influence of eCG on follicular growth and luteal function of prepubertal synthetic heifers (14 months) subjected to a protocol for estrous cycle control without the use of ovulation inducer was evaluated. In the second experiment, the effect of eCG associated with the TAI protocol (with ovulation inducer) on the pregnancy rate of taurine heifers (14 months) was verified. Statistical analysis was performed using ANOVA and logistic regression in the JMP statistical software (JMP Statistical Discovery LLC). As expected, the diameter of the DF on D0 (Control = 8.35 ± 0.44 mm; eCG = 9.18 ± 0.47 mm) was greater ($p=0.002$) compared to D-2 (Control = 7.00 ± 0.44 mm; eCG = 6.89 ± 0.47 mm) regardless of the group. There was no difference in the DF diameter between groups, and there was no interaction between group and day ($p=0.44$ and $p=0.32$, respectively). There was no statistical difference in ovulation rate ($p=0.26$), CL diameter ($p=0.55$), serum P4 concentration ($p=0.40$), and conception rate ($p=0.34$) between groups. However, it was observed that only 53% of the animals in the Control group were observed in estrus and inseminated at the end of the experiment, compared to 84% of the eCG group ($p=0.07$). Furthermore, by the end of the study, 100% of the eCG group heifers and 70% of the Control group heifers had become pubertal. In Experiment 2, the objective was to evaluate the treatment's effect on fertility. 56 taurine heifers aged 14 months (in puberty transition and cyclic) were synchronized according to the protocol described in Experiment 1, in addition to the administration of 1mg of estradiol cypionate simultaneously with the removal of DIV on D-2. A highly significant effect ($p=0.001$) on conception rate was observed between Control (21.4%; $n=28$) and eCG (60.7%; $n=28$) groups.

Keywords: *beef heifers; eCG; estrous cycle; follicles; puberty;*

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcento
®	Marca registrada
CL	Corpo lúteo
DIV	Dispositivo intravaginal de progesterona
E ₂	Estradiol
ECC	Escore de condição corporal
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
FD	Folículo dominante
FSH	Hormônio folículo-estimulante
g	Gramma
GnRH	Hormônio liberador de gonadotrofina
h	Hora
IA	Inseminação artificial
IATF	Inseminação artificial em tempo fixo
IM	Intramuscular
kg	Quilograma
LH	Hormônio luteinizante
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
ng	Nanograma
NPY	Neuropeptídeo Y
P ₄	Progesterona
PGF	Prostaglandina F _{2α}
P/IA	Taxa de concepção
UI	Unidades internacionais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1	PUBERDADE.....	11
2.2	CICLO ESTRAL.....	12
2.3	HORMÔNIOS E SUA UTILIZAÇÃO NA MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL.....	15
2.3.1	Progesterona (P₄).....	15
2.3.2	Estradiol (E₂)	16
2.3.3	Prostaglandina (PGF)	17
2.3.4	Gonadotrofina coriônica equina (eCG).....	18
2.4	OBSERVAÇÃO DE ESTRO.....	19
2.5	CONCLUSÃO	19
3	ARTIGO CIENTÍFICO.....	20
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	37
	REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior exportador de carne bovina do mundo, atingindo em 2023 a marca de 2,26 milhões de toneladas vendidas para mais de 150 países demonstrando um crescimento de 22,6% em comparação a 2021 (ABIEC, 2023). O rebanho bovino brasileiro cresce todos os anos para suprir tanto a demanda externa quanto a demanda interna de carne, por conta disso o rebanho bovino atingiu a quantidade de 234 milhões, segundo o IBGE (2022) . Em virtude dessa alta demanda, há um constante crescimento no emprego de biotecnologias da reprodução que visam otimização e constância da produção pecuária (Oliveira; Sarapião; Quintão, 2014)

Dentre as biotecnologias aplicadas na reprodução bovina, encontramos diferentes formas de manipular o ciclo estral da fêmea, com intuito de potencializar a capacidade produtiva. Historicamente, as fêmeas bovinas iniciavam sua atividade reprodutiva a partir dos 3 anos de vida (Lobato, 1985). Em busca de aumento na produtividade, tem-se estudado estratégias para induzir a puberdade de novilhas com o objetivo de gerar o primeiro bezerro aos 2 anos de idade, e para isso a puberdade deve ser atingida até os 13 meses de idade (Perry, 2016).

Entre os hormônios utilizados nos protocolos de IA, pode-se citar o uso difundido da gonadotrofina coriônica equina (eCG) para a manipulação do ciclo estral e para a indução de superovulação em diversas espécies (Aleixo *et al.*, 1995). A eCG é uma glicoproteína obtida a partir do soro de éguas prenhes, sendo que sua ação na espécie bovina é similar aos efeitos do FSH e LH (Papkoff, 1974), por se ligar dos receptores desses dois hormônios (Baruselli *et al.*, 2008; Ptaszynska, 2013).

Portanto, o objetivo da presente monografia é realizar uma revisão sobre os principais tópicos relacionados ao ciclo estral e puberdade de bovinos de corte. Essa revisão serve de base para a confecção de um artigo científico que busca avaliar a influência da eCG no crescimento folicular e função luteal de novilhas sintéticas de 14 meses.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Essa seção do trabalho de conclusão tem como objetivo revisar os principais tópicos referentes a mudanças hormonais e fisiológicas durante a puberdade de fêmeas bovinas e contextualizar a importância do controle do ciclo estral nas biotecnologias da reprodução.

2.1 PUBERDADE

A puberdade de fêmeas bovinas é caracterizada por ser a etapa final de inúmeros processos fisiológicos e morfológicos para ocorrência da primeira ovulação e para obtenção da competência reprodutiva, que resultam na capacidade de conceber e manter a prenhez (Senger, 2003; Sá Filho *et al.*, 2012). Em novilhas taurinas a puberdade ocorre entre 6 e 12 meses de idade, quando apresentam em média 60% do peso corporal adulto (Forde *et al.*, 2011), entretanto as novilhas devem apresentar peso adequado para manter a gestação, visto que ainda estão em crescimento e desenvolvimento (Eloy *et al.*, 2022). O início do processo de puberdade está intimamente ligado a secreção do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) pelo hipotálamo com frequência e concentração adequadas para a estimulação da liberação de gonadotrofinas pela adenohipófise, tais como hormônio folículo-estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) (Senger, 2003).

Diversos mecanismos fisiológicos regulam a liberação de GnRH pelo hipotálamo, entre eles está o *feedback* negativo de estradiol (E₂) em fêmeas pré-púberes, visto que o hipotálamo de novilhas imaturas é mais sensível aos efeitos inibitórios do E₂ (Rodrigues; Kinder; Fitzpatrick, 2002; Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021). Conforme ocorre a maturação do hipotálamo e o acúmulo de reservas energéticas pela fêmea, há uma diminuição da hipersensibilidade ao E₂, que provoca liberação de GnRH e que por sua vez induz a secreção de pulsos de FSH e LH em maior frequência, os quais são responsáveis por estimular o desenvolvimento folicular (Kinder *et al.*, 1995; Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021).

O desenvolvimento do hipotálamo é influenciado por diversos fatores intrínsecos e extrínsecos, como peso, escore de condição corporal (ECC), genética, nutrição e idade (Ptaszynska, 2013). Um dos principais inibidores da puberdade é a subnutrição; a condição corporal e o estado nutricional atual da fêmea modulam a produção de leptina pelo tecido adiposo, esse hormônio possui uma importante ação na regulação do eixo hipotalâmico-

hipofisário, por meio da sua concentração sérica mínima necessária para a ocorrência da puberdade. Além da leptina, a expressão do neuropeptídeo Y (NPY), mais conhecido como hormônio da fome, inibe a liberação de GnRH e consequentemente diminui a secreção de LH atrasando a puberdade (Perry, 2016; Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021). As diferenças fisiológicas entre *Bos indicus* e *Bos taurus* possuem como consequência idades diferentes de puberdade, sendo as fêmeas taurinas mais precoces em comparação às zebuínas (Rodrigues; Kinder; Fitzpatrick, 2002).

A primeira ovulação é ocasionada à medida que ocorre recrutamento, seleção e desenvolvimento dos folículos ovarianos, ao passo que gradativamente as concentrações séricas de estradiol aumentam, estimulando o hipotálamo a secretar GnRH em pulsos distintos para a liberação de LH pela adenohipófise (Senger, 2003). Essa primeira ovulação geralmente é silenciosa, sem a manifestação do comportamento do estro, seguido de um primeiro corpo lúteo (CL) considerado hipofuncional, visto que sua duração é curta. Entretanto, os níveis de P₄ produzidos pelo CL são suficientes para modular a interpretação do hipotálamo às concentrações séricas de E₂, por isso, a primeira ovulação é essencial para o estabelecimento da ciclicidade (Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021).

2.2 CICLO ESTRAL

Após passar pela puberdade, a fêmea bovina inicia seu período de ciclicidade com um padrão de atividade ovariana de duração média de 21 dias distribuídos ao longo do ano, o qual varia conforme o número de ondas foliculares que a fêmea apresenta (Forde *et al.*, 2011), caracterizando a espécie como poliéstrica não estacional (Ptaszynska, 2013).

O ciclo estral é definido por uma série de eventos reprodutivos que ocorrem entre dois estros (Senger, 2003), dividido em duas fases distintas, sendo a primeira a fase lútea que ocorre, em média, do 1º ao 18º dia do ciclo, seguida da fase folicular que transcorre do 19º dia até a ocorrência do estro e da ovulação (Forde *et al.*, 2011).

A fase lútea é caracterizada por sua principal estrutura ovariana ser o corpo lúteo (CL), o que resulta na predominância do hormônio progesterona (P₄). Esse período é determinado da ovulação até a regressão do CL, compreendendo o metaestro e o diestro (Senger, 2003). Já a fase folicular é caracterizada pelo crescimento do folículo dominante (FD), pela manifestação do comportamento de estro e pela ovulação, sendo o estradiol (E₂) o hormônio predominante, compreendendo o proestro e o estro (Senger, 2003; Gordon, 2004).

A transição da fase lútea para a fase folicular é marcada pela rápida regressão do CL, ocasionado pela ação de prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PGF) secretada de forma pulsátil pelo endométrio uterino, já a transição da fase folicular para a lútea é determinada pela ovulação (Gordon, 2004).

Durante o ciclo estral a fêmea apresenta de 3 a 4 ondas foliculares, que são definidas pelos quatro processos da dinâmica folicular, são eles: recrutamento, seleção, dominância e atresia. Esses processos ocorrem tanto na fase lútea, quanto na fase folicular (Senger, 2003) e cada onda resulta em um FD, sendo o folículo ovulatório originário da última onda (Ginther *et al.*, 1996). No início da onda folicular, com as altas concentrações de FSH, ocorre recrutamento de folículos antrais, que resulta na formação um grupo de folículos que irão se desenvolver até a seleção para o dominante. Quando essa onda folicular ocorre na fase lútea ainda há alta quantidade de P_4 circulante, que não permite o desenvolvimento do FD e o leva a atresia (degeneração), estimulando o surgimento de uma nova onda folicular com o novo pico de FSH (Senger, 2003; Gordon, 2004).

Durante o recrutamento os folículos passam a secretar baixas quantidades de E_2 e inibina, que, aos poucos, realizam *feedback* negativo à síntese e liberação de FSH pela adenohipófise. Conforme a secreção de FSH diminui, a secreção pulsátil de LH aumenta tornando-se essencial para o crescimento e desenvolvimento dos folículos (Mihm *et al.*, 2006).

O processo de seleção é definido pela expressão da dominância de um dos folículos em relação aos subsequentes, ou seja, a taxa de desenvolvimento desse folículo difere dos outros e suprime o crescimento dos folículos secundários, para que adquira competência ovulatória (Gordon, 2004; Jaiswal; Singh; Adams, 2004). No momento em que a dominância do folículo coincide com a fase folicular, ou seja, com a lise do CL e com a regressão da concentração de P_4 , há um maior crescimento e desenvolvimento desse folículo, dando início a divergência folicular (Senger, 2003).

A divergência folicular está intimamente ligada com a expressão dos receptores de LH presentes nas células da teca interna do FD e estimula a síntese e liberação de maiores quantidades de E_2 pelas células da granulosa (Senger, 2003). Os folículos destinados a ovular crescem significativamente entre os dias 14 e 16 do ciclo estral, aumentando de 4-5mm de diâmetro para 9-11mm no final desse, estando apto a ovular (Gordon, 2004).

A divergência folicular varia entre fêmeas taurinas (*Bos taurus*) e zebuínas (*Bos indicus*). Estudos realizados indicam que o desvio do diâmetro folicular em novilhas zebuínas de corte ocorre 2,8 dias após a ovulação quando o folículo atinge por volta de 5,7 mm (Sartorelli *et al.*, 2005), além disso foi descrito o diâmetro máximo do folículo ovulatório ser similar em vacas e novilhas zebuínas, com cerca de 11mm (Figueiredo *et al.*, 1997). Em comparação, as

novilhas taurinas de corte apresentam a divergência folicular com o folículo dominante possuindo cerca de 9mm de diâmetro (Martinez *et al.*, 1999), além disso novilhas taurinas que ovulam folículos com diâmetro entre 10,7 mm e 15,7 mm possuem maior probabilidade de concepção (Perry *et al.*, 2007).

O metaestro compreende o período da maturação final e da ovulação do FD até a formação de CL funcional, logo, tanto a P_4 quanto o E_2 encontram-se em baixas concentrações. O folículo recém ovulado sofre modificações morfológicas durante o processo de luteinização, resultando na formação do CL, que durante o metaestro secreta baixa quantidade de P_4 . Dois a cinco dias após a ovulação o CL sintetiza e secreta quantidades significativas de P_4 , e inicia-se a fase denominada de diestro (Senger, 2003).

O diestro é o período mais longo do ciclo estral, durando cerca de 10 a 14 dias, visto que é a fase onde o CL encontra-se funcional secretando grande quantidade de P_4 , suprimindo a liberação de grandes quantidades de FSH e LH. Durante esse período o trato reprodutivo da fêmea prepara o ambiente para um possível desenvolvimento embrionário e para o estabelecimento de uma futura gestação, esse estágio do ciclo se mantém até a luteólise do CL pela ação da prostaglandina $F2\alpha$ (PGF) (Senger, 2003; Gordon, 2004).

A capacidade de produção de P_4 é determinada pela quantidade de células lúteas e pelo grau de vascularização do CL (Youngquist; Threlfall, 2006). Pesquisas realizadas por Velho *et al.* (2021), demonstraram que conforme há o aumento de diâmetro do CL, também há o aumento da produção de P_4 , por conta disso fêmeas que apresentam maior diâmetro 5 dias após a inseminação possuem uma maior probabilidade de estabelecimento da prenhez.

Após o fim da fase lútea com a lise do CL, se inicia o período de proestro, caracterizado pela diminuição brusca dos níveis de P_4 e pela resposta da ação de FSH e LH nas células do folículo pré-ovulatório aumentando a síntese e secreção de E_2 e inibina. Conforme a concentração de E_2 aumenta exponencialmente a fêmea bovina começa a apresentar sinais comportamentais visíveis característicos do estro, além da alteração comportamental nota-se alterações fisiológicas no trato reprodutivo no intuito de preparação para a cópula (Senger, 2003).

Inicialmente no período de estro a fêmea não apresenta-se receptiva a monta, mas sinais como aumento da locomoção, vocalização e tentativas de montar nas outras fêmeas do rebanho são indicativos de que a receptividade sexual está próxima (Senger, 2003). No decorrer da dominância do folículo os níveis elevados de E_2 estimulam o comportamento de aceitar a monta, e em conjunto com a secreção de inibina há o *feedback* negativo para a supressão de FSH pela adenohipófise e *feedback* positivo para o aumento da concentração sérica e a

ocorrência do pico de LH, induzindo a ovulação do FD, que ocorre cerca de 30 horas após o início do estro, sendo seguida da fase lútea do ciclo estral (Senger, 2003; Forde *et al.*, 2011; Ptaszynska, 2013).

2.3 HORMÔNIOS E SUA UTILIZAÇÃO NA MANIPULAÇÃO DO CICLO ESTRAL

Essa seção tem como objetivo revisar os principais hormônios atuantes no ciclo estral de fêmeas bovinas e sua adaptabilidade em protocolos de inseminação

2.3.1 Progesterona (P₄)

A progesterona (P₄) é o principal hormônio da fase lútea do ciclo, e atinge sua maior concentração durante o diestro. Esse hormônio é produzido pelo corpo lúteo, que se forma a partir da luteinização de um folículo recém ovulado, e pela placenta, tendo como função preparar o ambiente uterino para a fixação do embrião e manter esse ambiente adequado para a continuidade da prenhez (Senger, 2003).

O dispositivo intravaginal de P₄ (DIV) começou a ser utilizado por volta década de 1970 em bovinos. A suplementação intravaginal de P₄ promove a liberação gradual e contínua do progestágeno que será absorvido pela mucosa vaginal, assim evita-se numerosos manejos estressantes com injeções intramusculares (Gordon, 2004).

Ao utilizar P₄ exógena se simula a fase lútea do ciclo, que realiza *feedback* negativo à liberação de GnRH pelo hipotálamo, suprimindo a secreção de gonadotrofinas (LH e FSH) para não ocorrer o desenvolvimento final e a ovulação do FD (Ptaszynska, 2013). Ao se retirar a suplementação de P₄ ocorre a regressão nos níveis séricos desse hormônio, o estímulo ao hipotálamo aumentar a frequência de secreção de GnRH e a indução do pico de LH seguido da ovulação, no intuito de posterior inseminação (Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021).

Ptaszynska (2013) relata que uma das vantagens da sincronização à base de progestágenos é a capacidade de induzir a ciclicidade em vacas em anestro, visto que a P₄ exógena sensibiliza o eixo hipotalâmico-hipofisário-gonadal. Conforme Ball e Peters (2007) para que um rebanho de fêmeas sincronize a ovulação somente com a utilização de P₄ exógena, a permanência do DIV deve ser igual ao tempo de duração de um CL viável, ou seja, entorno

de 16 dias, quando associado a administração de outros análogos hormonais esse tempo pode ser reduzido, otimizando o processo de sincronização.

2.3.2 Estradiol (E₂)

O Estradiol (E₂) é um hormônio esteroide sintetizado pelas células da granulosa dos folículos, é considerado o hormônio do estro, que gera modificações no trato reprodutivo da fêmea para a chegada dos espermatozoides, estimula a secreção de LH por meio de mecanismos de *feedback* e promove a receptividade sexual e motilidade uterina (Gordon, 2004; Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021) .

A administração de E₂ exógeno está relacionada com a utilização de progestágenos nos protocolos de sincronização da ovulação das fêmeas. Os ésteres de estradiol são usados como agentes indutores de ovulação nos protocolos, os mais empregados são o benzoato de estradiol (BE) e o cipionato de estradiol (CE), que possuem como objetivo provocar o surgimento de uma nova onda folicular no início do protocolo e de induzir a ovulação do FD após a retirada do DIV (Ptaszynska, 2013).

O que difere esses dois ésteres de estradiol é o tempo de meia vida do fármaco, dado que a meia vida do BE é mais curta em comparação ao CE, o que induz o pico de LH e a ovulação mais precocemente. O pico de LH provocado na utilização de BE ocorre cerca de 20 horas após sua aplicação com maior amplitude e menor duração, já o pico provocado pelo CE ocorre cerca de 50 horas após sua aplicação com menor amplitude e maior duração (Sales *et al.*, 2012).

O BE em conjunto com a P₄ suprime as concentrações sérias de FSH e LH, com conseqüente atresia dos folículos da onda ativa, e por conta da meia-vida curta os níveis de E₂ reduzem rapidamente estimulando o surgimento de uma nova onda folicular em 3 a 4 dias após a aplicação (Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021).

Por conta da meia vida dos ésteres citados anteriormente, se preconiza a administração de BE no início do protocolo no intuito de resetar a onda folicular rápida e simultaneamente em todas as fêmeas bovinas submetidas ao protocolo, e a administração CE no dia da retirada do DIV com o propósito de beneficiar o crescimento e desenvolvimento final do FD e o pico de LH para a ovulação síncrona das fêmeas (Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021).

Entretanto, o uso de CE como indutor causa uma dispersão da ovulação em vacas taurinas de 48h a 96h após a aplicação, já o uso de BE como indutor tem como limitante o fato

de que sua aplicação deve ocorrer 24h após a remoção do DIV, aumentando o estresse e os manejos no período pré-ovulatório (Souza *et al.*, 2009).

Ao final do protocolo faz-se necessário a remoção da fonte exógena de progestágenos, para redução das concentrações séricas de P₄, a administração de prostaglandina, promovendo a luteólise de um possível CL presente nos ovários da fêmeas, e a aplicação de CE para promover o crescimento final do FD e induzir a ovulação sincronizada do rebanho protocolado (Sales *et al.*, 2012).

2.3.3 Prostaglandina (PGF)

A prostaglandina F_{2α} (PGF) é um hormônio produzido e secretado pelas células do endométrio uterino e tem como ação principal induzir a regressão do CL na transição da fase lútea para a fase folicular (Gordon, 2004; Gonçalves; Figueiredo; Gasperin, 2021).

Protocolos de sincronização com base no uso exclusivo de análogos de PGF necessitam de exame ginecológico minucioso para verificação da ciclicidade das fêmeas, visto que só funcionará no animal que possuir CL responsivo no momento da aplicação, além disso esse tipo de protocolo está intimamente associado à observação de estro, que pode ocorrer entre 1 e 5 dias após a aplicação (Gordon, 2004; Gonçalves; Figueiredo; Gasperin, 2021).

Durante os dias 6 a 16 do ciclo estral o corpo lúteo apresenta-se responsivo à ação da PGF, visto que é nesse intervalo que ocorre a liberação endógena desse hormônio, logo quando aplicado PGF exógena nesse período haverá a lise do CL e a redução do ciclo, o que estimula o início uma nova onda folicular, a manifestação do estro e a ovulação. Todavia, para a sincronização de um grupo de fêmeas cíclicas uma aplicação única não é suficiente, visto que estão em estágios diferentes e desconhecidos do ciclo, ou seja, há vacas não responsivas a PGF, portanto pode-se realizar uma segunda aplicação de PGF 11 a 13 dias depois, pois após esse período todas as fêmeas submetidas apresentarão um CL funcional (Ptaszynska, 2013).

Fêmeas que apresentam um folículo que já atingiu dominância e recebem aplicação de PGF exógena manifestam o estro cerca de 2 a 3 dias depois, já as que não possuíam FD demoram mais para apresentar o estro, visto que há a necessidade de um maior crescimento do folículo pré-dominante ou uma nova onda folicular para a ovulação (Ptaszynska, 2013).

Em bovinos de corte o protocolo com o uso somente de PGF não é o de eleição, visto que há alta incidência de vacas em anestro pós-parto (ou seja, vacas que não respondem a PGF) e de não haver o controle da fase folicular em fêmeas cíclicas, logo o momento da ovulação

depende do estágio de desenvolvimento do maior folículo. Como consequência a observação de estro faz-se necessária por cerca de 5 dias, mobilizando mão de obra 2 vezes ao dia para verificação da manifestação do estro no lote protocolado (Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021; Ptaszynska, 2013).

Em protocolos de sincronização que utilizem progestágenos e ésteres de estradiol, a aplicação de PGF no dia da retirada do DIV serve para garantir a ausência do tecido luteínico, visto que o BE e o DIV não promovem a regressão do CL (Gordon, 2004; Ptaszynska, 2013).

2.3.4 Gonadotrofina coriônica equina (eCG)

A gonadotrofina coriônica equina (eCG) é uma glicoproteína produzida pelos cálices endometriais da placenta de éguas prenhes (Aleixo *et al.*, 1995). Esse hormônio apresenta, na mesma molécula, ação semelhante ao FSH e ao LH em fêmeas bovinas, por conta disso seu uso na manipulação do ciclo estral tem sido muito difundido (Papkoff, 1974).

Com uma meia vida de 45h na corrente sanguínea (Murphy; Martinuk, 1991), a eCG, quando utilizado em fêmeas bovinas, estimula o desenvolvimento folicular por se ligar em receptores de FSH e LH, promovendo uma melhor maturação folicular e a ovulação (Baruselli *et al.*, 2008; Ptaszynska, 2013).

De acordo com Macmillan, Segwagwe e Pino (2003) vacas em anestro, quando tratadas com os protocolos convencionais de IATF, possuem a tendência de gerar FD de menor diâmetro e produzir menores concentrações de P₄ após a ovulação e por conta disso comprometer o estabelecimento da prenhez.

Murphy e Martinuk (1991) demonstraram que o tratamento com eCG previamente a inseminação causou o aumento da P₄ sérica durante a fase lútea, teoria que foi sustentada por Baruselli *et al.* (2004) onde a aplicação de 300 a 400UI de eCG 48h antes da inseminação de bovinos de corte resultou em maiores concentrações de P₄ no início da gestação, além de aumentar a porcentagem de fêmeas que ovularam no protocolo de IATF. Além disso, Sá Filho *et al.* (2012) demonstrou que o uso de 400 UI de eCG em novilhas nelore proporcionou aumento do diâmetro folicular, da taxa ovulação, do diâmetro do CL e da taxa de prenhez à IATF.

Estudos realizados por Bilbao *et al.* (2016) concluíram que em vacas de corte pós-parto com baixo ECC o tratamento prolongado de P₄ (21 dias de DIV de 2g P₄) associado a aplicação de eCG aumentou o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório e a taxa de prenhez por IA.

2.4 OBSERVAÇÃO DE ESTRO

O estro é um conjunto de diversas mudanças fisiológicas e comportamentais que preparam a fêmea para a cópula. Essa fase do ciclo estral pode durar de 4 a 24h, onde a fêmea apresenta sinais visuais clássicos como: vulva edemaciada, mucosa vaginal hiperêmica, corrimento vaginal mucoso transparente (similar a “clara de ovo”), base da cauda arrepiada ou sem pelos, posição de estação quando montada, inquietude, reflexo de “*flehmen*”, maior vocalização, lordose e redução da ingesta alimentar (Ptaszynska, 2013).

Os sinais de estro podem ser confundidos na presença de vários animais em pró-estro, entretanto o comportamento mais confiável é a receptividade à monta, ou seja, permanecer parada no momento da monta por outra fêmea (Ptaszynska, 2013). A ovulação ocorre cerca de 10 a 14h após o estro (Forde *et al.*, 2011), por conta disso a observação de cio deve ser realizada no mínimo 2 vezes ao dia, no início da manhã e no final da tarde (horários mais frescos dos dia) com o intuito de averiguar a movimentação e os sinais de estro das fêmeas, determinando e registrando quais estão permitindo serem montadas, sendo a inseminação realizada 12h depois (Gasperin; Sales; Vasconcelos, 2021).

Atualmente existem tecnologias que auxiliam na detecção de estro, os mais utilizados são os “marcadores de monta”, que podem ser a base de tinta, bastão marcador, adesivo e detectores eletrônicos, todos com a finalidade de auxiliar informando que a fêmea está receptiva a monta (Ptaszynska, 2013).

2.5 CONCLUSÃO

A puberdade é uma das características para a avaliação da precocidade sexual de novilhas e a antecipação da puberdade permite que a vida reprodutiva dessas fêmeas seja prolongada e que aumente a produtividade do rebanho. O sucesso para a precocidade sexual de novilhas depende de inúmeros manejos e fatores, dentre eles a utilização de hormônios exógenos para a modulação da puberdade e do ciclo estral. A eCG, por estimular o desenvolvimento folicular, é uma das alternativas usadas para a manipulação do ciclo, e a partir disso pode-se avaliar a influência dessa glicoproteína na ciclicidade de novilhas 14 meses, visando indução da puberdade.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Nesse item será apresentado o artigo intitulado “Influência do eCG em protocolos de inseminação artificial em novilhas pré-púberes sintéticas e taurinas”.

INFLUÊNCIA DO eCG EM PROTOCOLOS DE INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM NOVILHAS PRÉ-PÚBERES SINTÉTICAS E TAURINAS

Bárbara Luana Wollmeister, Gabrielle Cristine Guarnieri, Gabriella dos Santos Velho, André Gustavo Cabrera Dalto, Monique Tomazele Rovani

Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil.

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do uso de eCG no crescimento folicular, função luteal e fertilidade em novilhas sintéticas e taurinas de 14 meses. No Experimento 1, trinta e quatro novilhas Brangus (74% em anestro) foram submetidas ao protocolo de IA. No primeiro dia de protocolo (D-9), todas as novilhas receberam um dispositivo intravaginal de 1mg P₄ de segundo uso (DIV) e 2mg de benzoato de estradiol IM. No D-2, as novilhas foram distribuídas em 2 grupos: Controle (n=20) e eCG (n=14). Simultaneamente à retirada do DIV e aplicação de 526µg de cloprostenol sódico IM, as novilhas do grupo eCG receberam 300UI de eCG, e as do grupo Controle não receberam nenhum tratamento adicional. Foram realizados exames ultrassonográficos no D-2 e D0 do protocolo para avaliar o diâmetro de folículo dominante (FD). A análise estatística foi realizada pelo método de ANOVA e por regressão logística no software estatístico JMP (JMP Statistical DiscoveryLLC.). Como esperado, o diâmetro do FD no D0 (Controle = 8,35 ± 0,44mm; eCG = 9,18 ± 0,47mm) foi maior (p=0,002) em relação ao D-2 (Controle = 7,00 ± 0,44mm; eCG = 6,89 ± 0,47mm) independente do grupo. Não foi observada diferença no diâmetro do FD entre grupos e não houve interação entre grupo e dia (p=0,44 e p=0,32, respectivamente). Não foi observada diferença estatística na taxa de ovulação (p=0,26), diâmetro do CL (p=0,55), concentração sérica P₄ (p=0,40) e taxa de concepção (p=0,34) entre grupos. No entanto, considerando observou-se que somente 53% dos animais do grupo Controle foram observados em estro e inseminados ao final do experimento, comparados a 84% do grupo eCG (p=0,07). Além disso, ao final do estudo 100% das novilhas do grupo eCG e 70% do grupo Controle tornaram-se púberes. No Experimento 2, objetivou-se avaliar o efeito do tratamento na fertilidade. 56 novilhas taurinas 14 meses (em transição da puberdade e cíclicas) foram sincronizadas conforme protocolo descrito no Experimento 1, além da administração de 1mg

de cipionato de estradiol simultânea à retirada do DIV no D-2. Observou-se efeito altamente significativo ($p=0,001$) na taxa de concepção entre grupos Controle (21,4%; $n=28$) e eCG (60,7%; $n=28$). Conclui-se que em decorrência da tendência de maior manifestação estral no grupo eCG há indícios de maior concentração de estradiol nas fêmeas do respectivo grupo, além de haver benefício na taxa de P/IA.

Palavras-chave: ciclo estral; eCG; folículos; novilhas de corte; puberdade.

ABSTRACT

The objective of the present study was to evaluate the influence of eCG usage on follicular growth, luteal function, and fertility in synthetic and taurine heifers of 14 months. In Experiment 1, thirty-four Brangus heifers (74% in anestrus) were subjected to the AI protocol. On the first day of the protocol (D-9), all heifers received a second-use intravaginal device of 1mg P4 (DIV) and 2mg of intramuscular estradiol benzoate. On D-2, the heifers were divided into 2 groups: Control (n=20) and eCG (n=14). Simultaneously with the removal of DIV and application of 526 μ g of intramuscular sodium cloprostenol, the eCG group heifers received 300IU of eCG, while the Control group received no additional treatment. Ultrasonographic examinations were performed on D-2 and D0 of the protocol to evaluate the diameter of the dominant follicle (DF). Statistical analysis was conducted using ANOVA and logistic regression in the JMP statistical software (JMP Statistical Discovery LLC). As expected, the diameter of the DF on D0 (Control = 8.35 ± 0.44 mm; eCG = 9.18 ± 0.47 mm) was greater (p=0.002) compared to D-2 (Control = 7.00 ± 0.44 mm; eCG = 6.89 ± 0.47 mm) regardless of the group. There was no difference in the DF diameter between groups, and there was no interaction between group and day (p=0.44 and p=0.32, respectively). There was no statistical difference in ovulation rate (p=0.26), CL diameter (p=0.55), serum P4 concentration (p=0.40), and conception rate (p=0.34) between groups. However, it was observed that only 53% of the animals in the Control group were observed in estrus and inseminated at the end of the experiment, compared to 84% of the eCG group (p=0.07). Furthermore, by the end of the study, 100% of the eCG group heifers and 70% of the Control group heifers had become pubertal. In Experiment 2, the objective was to evaluate the treatment's effect on fertility. 56 taurine heifers aged 14 months (in puberty transition and cyclic) were synchronized according to the protocol described in Experiment 1, in addition to the administration of 1mg of estradiol cypionate simultaneously with the removal of DIV on D-2. A highly significant effect (p=0.001) on conception rate was observed between Control (21.4%; n=28) and eCG (60.7%; n=28) groups. It is concluded that due to the tendency of greater estrous manifestation in the eCG group, there are indications of higher concentration of estradiol in the respective group's females, in addition to the benefit in P/AI rate.

Keywords: *beef heifers; eCG; estrous cycle; follicles; puberty;*

INTRODUÇÃO

Em busca de aumento na produtividade na bovinocultura de corte, tem-se estudado estratégias para reduzir a idade à puberdade de novilhas, visando o primeiro parto aos 2 anos de idade (Perry, 2016). A puberdade é influenciada por diversos fatores genéticos, como raça e idade, além de fatores associados as condições ambientais, como peso, ECC e nutrição (Ptaszynska, 2013). Atualmente há diversos protocolos disponíveis para a manipulação do ciclo estral e indução de puberdade, sendo difundido o uso da gonadotrofina coriônica equina (eCG) em protocolos de IATF (Aleixo *et al.*, 1995).

A eCG é uma glicoproteína encontrada no soro de éguas prenhes, proporcionando a ovulação e a luteinização de folículos durante a gestação, que promove o aumento da progesterona sérica para a manutenção da gestação em equinos (Murphy; Martinuk, 1991). Já na espécie bovina, a eCG manifesta efeitos semelhantes aos do FSH e LH, devido à sua afinidade pelos receptores desses dois hormônios (Papkoff, 1974; Baruselli *et al.*, 2008; Ptaszynska, 2013). A eCG estimula o crescimento folicular e a ovulação quando aplicada em rebanhos com baixas taxas de ciclicidade (anestro), vacas em pós parto e animais com baixo escore de condição corporal (ECC) (Baruselli *et al.*, 2008). Apesar de ter sido observado que há o aumento da taxa de concepção em novilhas da raça Nelore tratadas com eCG (Sá Filho *et al.* 2005), seu o benefício em protocolos de IATF em novilhas taurinas e sintéticas ainda não foi descrito.

Dessa forma, foram realizados dois experimentos para avaliar a influência do uso de eCG concomitante à retirada do dispositivo intravaginal de progesterona (D-2) em protocolo de IA no crescimento folicular, função luteal e fertilidade de novilhas pré-púberes de 14 meses com e sem a associação de indutores de ovulação. No experimento 1, o objetivo foi determinar o crescimento do folículo dominante entre os dias D-2 e D0 com o uso de eCG sem administração de indutor de ovulação, avaliar a manifestação de estro e verificar a função luteal 7 dias após a inseminação artificial de novilhas sintéticas. No experimento 2, buscou-se determinar a taxa de concepção (P/IA) em novilhas taurinas com o uso de eCG associado ao cacionamento de estradiol em programa de IATF.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento 1

Animais

O estudo foi realizado na Estação Experimental Agronômica da UFRGS, localizada no município de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul. A fazenda conta com 1560 hectares, sendo 800 ha são destinados à produção de bovino de corte. Os animais da raça sintética Brangus eram criados em um sistema extensivo em pastagem de inverno (aveia e azevém), verão (milheto) e campo nativo, suplementação 3 vezes na semana com concentrado e água *ad libitum*.

Delineamento experimental

O *status* de ciclicidade das fêmeas foi definido a partir da avaliação da dinâmica ovariana através da ultrassonografia (aparelho de ultrassom DM20V For Medical, probe linear de 5MHz, modo B). Após a seleção das novilhas houve a formação de dois grupos: Grupo Controle (n = 20; mediana ECC = $3 \pm 0,11$; Peso médio = $305\text{kg} \pm 6,4$) e Grupo eCG (n = 14; mediana ECC = $3 \pm 0,13$; Peso = $300,5\text{kg} \pm 4,7$). O protocolo de IA, como ilustrado na figura 1A e B, foi iniciado com a administração 2mg de benzoato de estradiol IM (RIC-BE® Agener União) e a inserção do dispositivo intravaginal de progesterona (P₄) de segundo uso (DIV; 1g, Sincrogest®, Ouro Fino) no D-9.

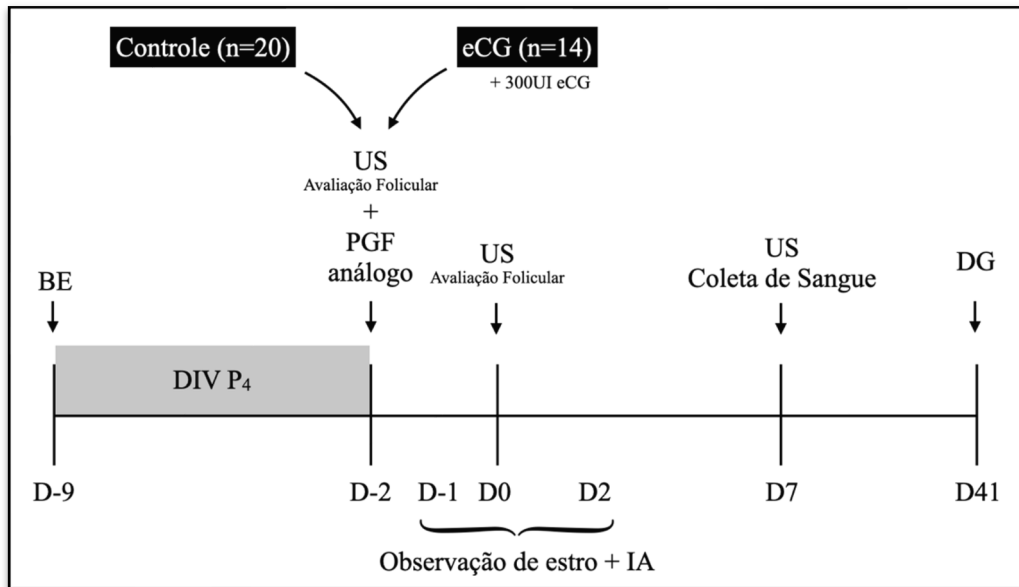
O DIV de P₄ foi mantido por 7 dias e retirado no D-2 do protocolo de IA juntamente com a aplicação de 526µg de cloprostenol sódico IM (análogo sintético da prostaglandina; Estron® Agener União) e realizada a marcação com tinta (Bovipaint®) na linha média da região dorsal do sacro para auxiliar no monitoramento do estro. O grupo eCG também recebeu 300UI de gonadotrofina coriônica equina IM (eCG; Novormon® 5000 Zoetis) no D-2, como ilustrado na figura 1B. Foram realizadas mensurações dos diâmetros dos folículos dominantes através de ultrassonografia nos D-2 e D0. Seis novilhas que não apresentaram crescimento folicular, ou seja, com diâmetros não mensuráveis, foram excluídas do estudo por não responderem ao protocolo.

Nos 4 dias após a retirada do DIV de P₄, observou-se a manifestação de estro 2 vezes ao dia, 1 hora no início da manhã e 1 hora ao final da tarde. As fêmeas que manifestaram o estro eram inseminadas no turno seguinte.

Para a avaliação da função luteal, mensurou-se diâmetro, perímetro e área do corpo lúteo através de ultrassonografia e foram coletadas amostras de sangue da veia coccígea caudal para análise sérica de P₄ sete dias após a última novilha inseminada. Por fim, o diagnóstico de gestação foi realizado 40 dias após a data da última inseminação, por ultrassonografia. Além

disso, avaliou-se novamente os ovários para determinar o status de ciclicidade das novilhas que não apresentavam gestação.

Figura 1 – Protocolo de IA e delineamento do Experimento 1 em novilhas da raça Brangus de 14 meses



Fonte: a própria autora

Amostras de sangue e dosagem hormonal

A coleta de sangue foi realizada sete dias após a data da última IA (D7) através da punção de vasos coccígeos em tubo vacutainer com ativador de coágulo e agulha 25 x 0,70 mm (Vacuplast®), as amostras foram processadas em laboratório, centrifugadas 3000 rpm por 15 min. O soro foi extraído e acondicionado em microtubos de 1,5mL a -18°C e enviadas para mensuração de P₄ pelo método de eletroquimioluminescência em laboratório comercial (Laboratório Pasin®), com sensibilidade de 0,21 ng/mL e CV intraensaio de 2,4%.

Ultrassonografia

A avaliação do status de ciclicidade das novilhas foi realizada no D-9 com o aparelho de ultrassom DM20V For Medical, probe linear de 5MHz, por via transretal. Nesse exame foi observado a presença de estruturas ovarianas, a identificação de CL era determinante para classificar a novilha como cíclica e a presença somente de folículos classificava como em novilha em anestro.

No D-2 e D0 foram realizados exames ultrassonográficos por via transretal, analisando o diâmetro dos FD de ambos os grupos. Para isso, foi efetuada a medição do tamanho do maior folículo presente, determinado pela média do diâmetro folicular. A última avaliação ultrassonográfica ovariana foi feita no D7 do protocolo para mensuração do diâmetro, perímetro e área do CL.

Experimento 2

Animais

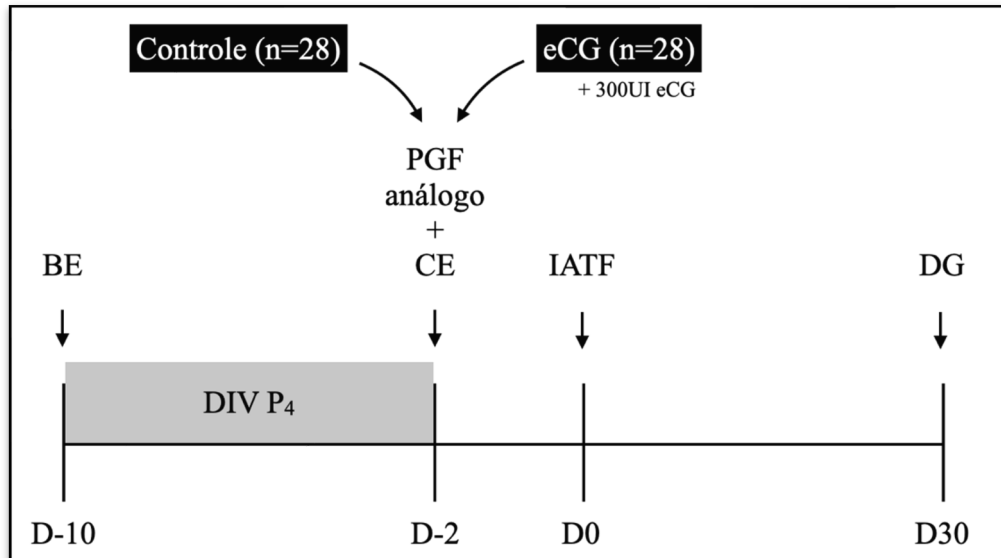
O segundo estudo foi realizado em duas propriedades de bovinos de corte localizadas nos municípios de Bom Jesus e de Pelotas, ambas no Rio Grande do Sul. Os animais da raça Aberdeen Angus eram criados em sistema extensivo em campo nativo com fornecimento de água *ad libitum*. Para a realização do estudo foram utilizadas 56 novilhas taurinas com idade de 14 meses cíclicas e em transição da puberdade, as quais foram selecionadas pela avaliação por palpação do ovário (presença de folículos ou corpo lúteo) e do útero (contratilidade e desenvolvimento) e peso (kg).

Delineamento experimental

As fêmeas foram distribuídas em 2 grupos: Grupo Controle (n = 28; Peso médio = 357kg \pm 24) e grupo eCG (n = 28; Peso = 362,5kg \pm 17,5). O protocolo de IATF foi iniciado com a administração 2mg de benzoato de estradiol IM (éster de estradiol; Syncrogen[®] GlobalGen) e a inserção do DIV de segundo uso (1g, Reproneo[®], GlobalGen) no D-10 em ambos os grupos, conforme demonstrado na figura 2A e B.

O DIV de P₄ foi mantido por 8 dias e retirado no D-2 do protocolo, juntamente com a aplicação de 526µg de cloprostenol sódico IM (análogo sintético da prostaglandina; Induscio[®] GlobalGen), 1,0mg de cipionato de estradiol IM (éster de estradiol; Cipion[®] GlobalGen) e realizada a marcação com bastão de cera (Walmur[®]) na linha média da região dorsal do sacro, para auxiliar no monitoramento do estro. Além disso, o grupo eCG recebeu 300UI de gonadotrofina coriônica equina IM (eCG; eCGen[®] 5000 GlobalGen). No D0 foi realizada a IATF, e após trinta dias as fêmeas foram submetidas ao diagnóstico de gestação.

Figura 2 – Protocolo de IATF e delineamento do Experimento 2 em novilhas da raça Aberdeen Angus de 14 meses



Fonte: a própria autora

Análise estatística

Todos os dados foram anotados em planilhas de campo e posteriormente tabulados em planilhas eletrônicas no programa *Microsoft Excel*[®]. Posteriormente, os dados contínuos foram analisados quanto à distribuição e normalizados quando necessários pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados de mensuração do CL e concentração sérica de P4 foram analisados por ANOVA. A taxa de concepção foi comparada utilizando-se regressão logística. As variáveis fazenda e touro não tiveram efeito significativo e, portanto, foram excluídos do modelo. As análises foram realizadas com o software estatístico JMP (*JMP Statistical Discovery LLC*.) e consideradas a um nível de significância mínimo de 5% para as comparações estabelecidas

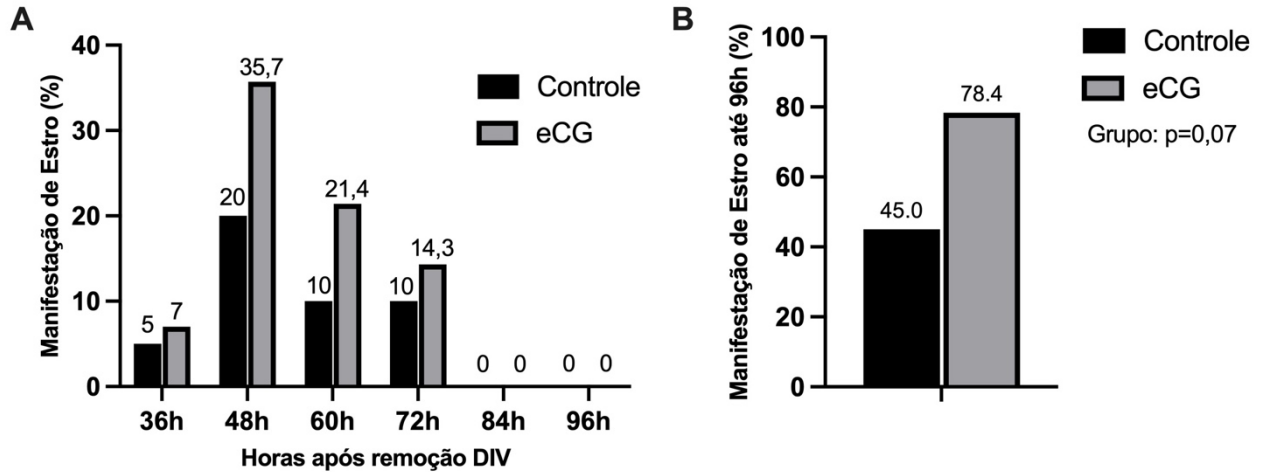
RESULTADOS

Experimento 1

A manifestação de estro após a remoção do DIV está demonstrada na Figura 3A nos grupos Controle e eCG. Verificou-se que houve uma concentração de estro em 48 horas após a retirada do DIV, visto que 20% do Grupo Controle e 35,7% das novilhas do grupo eCG manifestaram o estro nesse período (Figura 3A). Observou-se que 78,4% (11/14) das novilhas

do grupo eCG manifestaram estro, apresentando tendência em relação ao grupo Controle, com 45% (9/20) de manifestação de estro ($p=0,07$; Figura 3B).

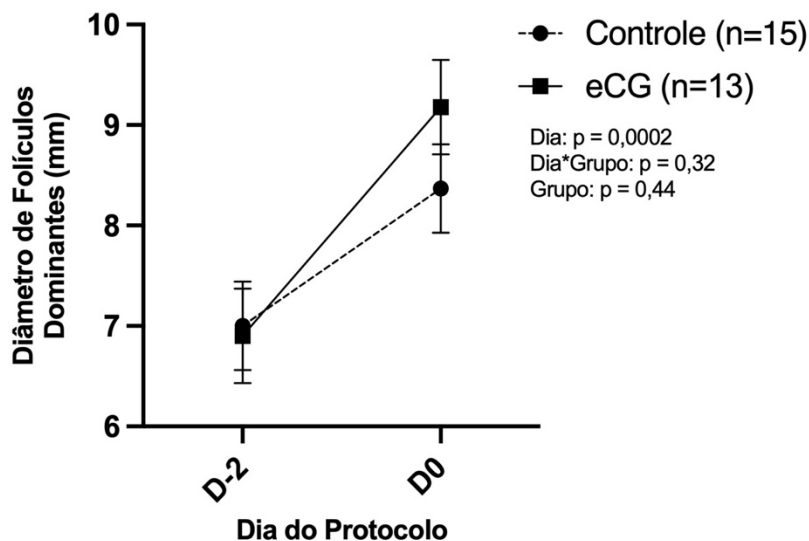
Figura 3 – Taxa de manifestação de estro do Experimento 1 em novilhas da raça Brangus dos grupos Controle ($n=20$) e eCG ($n=14$). A) Taxa de manifestação de estro 36h, 48h, 60h, 72h, 84h e 96h após a remoção do DIV. B) Taxa de manifestação de estro acumulado até 96h após a remoção do DIV.



Fonte: a própria autora

Foi observada diferença entre os dias (D-2 e 0) no diâmetro dos folículos dominantes ($p=0,0002$), porém não houve diferença entre grupos Controle e eCG ($p=0,44$), e não houve interação entre grupo e dia ($p=0,32$) (Figura 4). Seis novilhas foram excluídas durante essa fase do estudo por não responderem ao protocolo, visto que não apresentaram crescimento folicular mensurável, por conta disso o número de animais analisados reduziu.

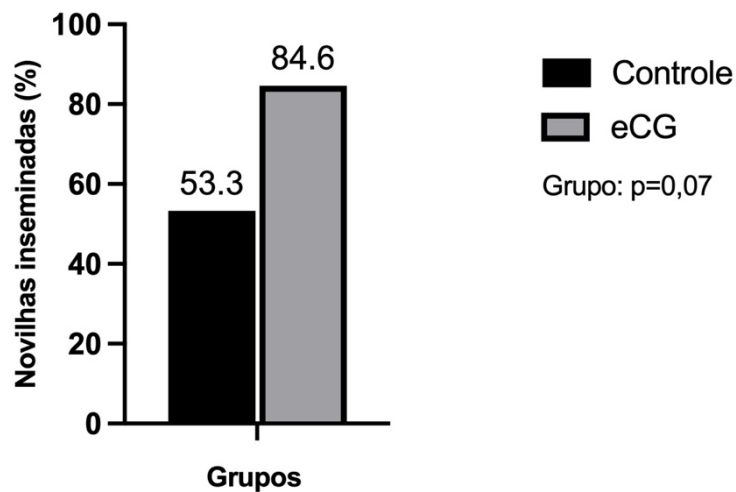
Figura 4 – Avaliações ovarianas do diâmetro do FD (mm) do Experimento 1 em novilhas da raça Brangus entre os dias -2 e 0 do protocolo de IA nos Grupos Controle ($n=15$) e eCG ($n=13$).



Fonte: a própria autora

Conforme a manifestação de estro, observou-se maior tendência na taxa de novilhas inseminadas ($p=0,07$) do Grupo eCG, sendo que 84,6% (11/13) das novilhas que responderam ao protocolo foram inseminadas 12h após a manifestação de estro. Entretanto, somente 53,3% (8/15) dos animais que responderam ao protocolo do grupo Controle foram inseminados (Figura 5).

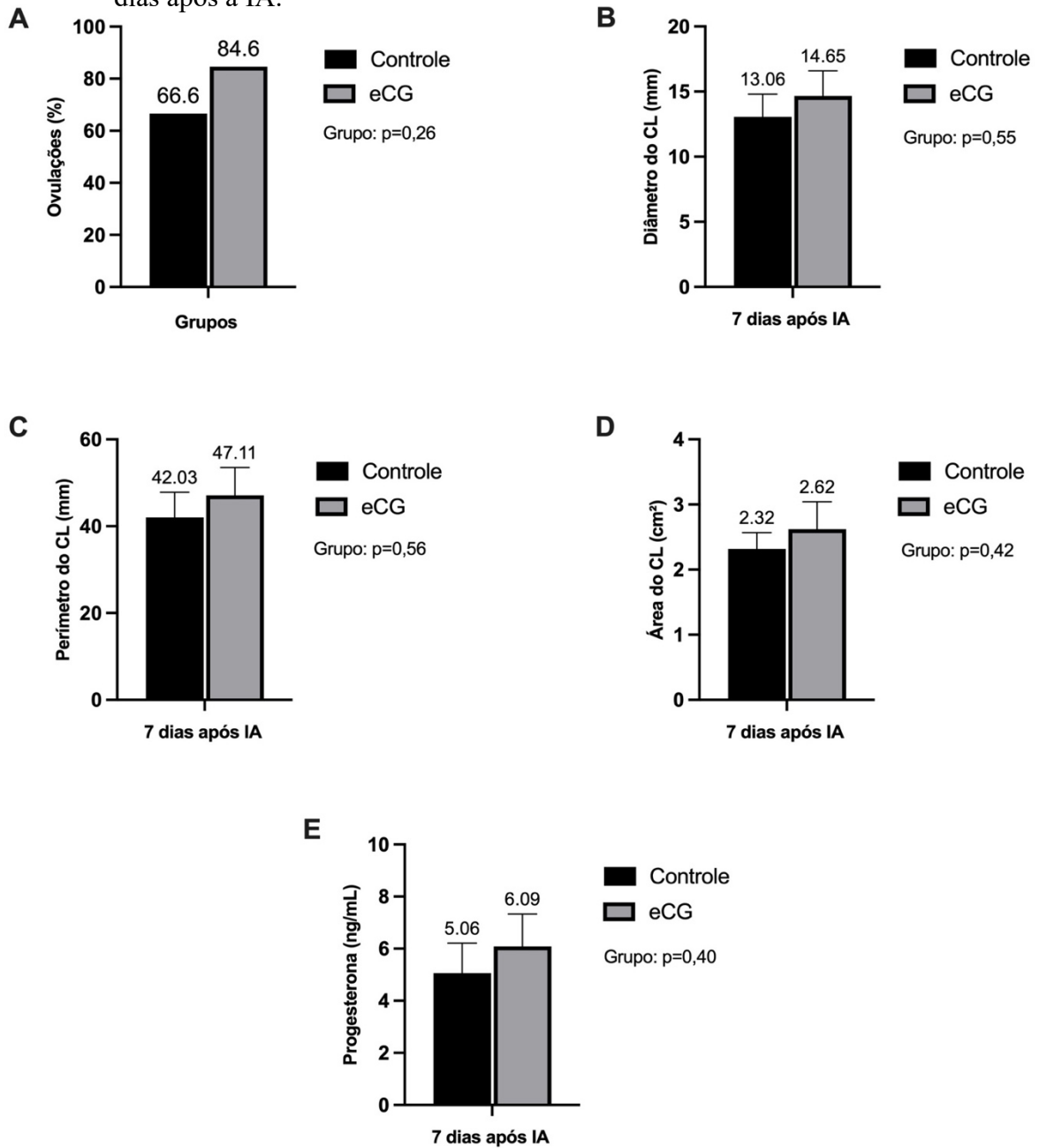
Figura 5 – Taxa de inseminação no Experimento 1 em novilhas da raça Brangus dos grupos Controle (n=15) e eCG (n=13) durante o período de observação de estro das novilhas que responderam ao protocolo.



Fonte: a própria autora

Não foi observada diferença significativa na taxa de ovulação ($p=0,26$; Figura 6A), no diâmetro do CL ($p=0,55$; Figura 6B), perímetro do CL ($p=0,56$; Figura 6C) e área do CL ($p=0,42$; Figura 6D) entre os grupos Controle e eCG. Além disso não se observou diferença na concentração de P4 sérica entre grupos ($p=0,40$; Figura 6E).

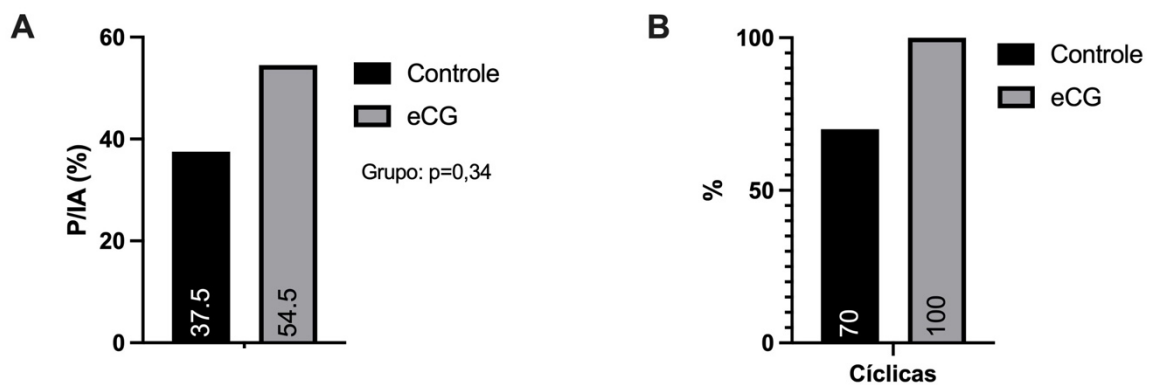
Figura 6 – Avaliações ovarianas de CL do Experimento 1 em novilhas da raça Brangus 7 dias após a IA entre os grupos Controle (n=15) e eCG (n=13). A) Taxa de ovulação. B) Diâmetro do CL (mm) 7 dias após a IA. C) Perímetro do CL (mm) 7 dias após a IA. D) Área do CL (cm²) 7 dias após a IA. E) Concentração de progesterona (ng/mL) 7 dias após a IA.



Fonte: a própria autora

Não foi observada diferença na taxa de concepção (P/IA) ($p=0,34$), visto que 37,5% (3/8) de novilhas do Grupo Controle e 54,5% (6/11) de novilhas do Grupo eCG foram diagnosticadas como prenhes 40 dias após a IA (Figura 7A). Além disso foi observado no status de ciclicidade acumulado durante o estudo que 100% das novilhas do Grupo eCG encontravam cíclicas com o tratamento em comparação a 70% no Grupo Controle, entretanto não se observou diferença estatística (Figura 7B).

Figura 7 – Avaliações ultrassonográficas 40 dias após a IA no Experimento 1 em novilhas Brangus. A) Taxa de concepção (P/IA) 40 dias após a IA nos Grupos Controle (n=8) e eCG (n=11). B) Taxa de ciclicidade acumulada das novilhas durante o período do Experimento 1 (49 dias) nos Grupos Controle (n=20) e eCG (n=14).

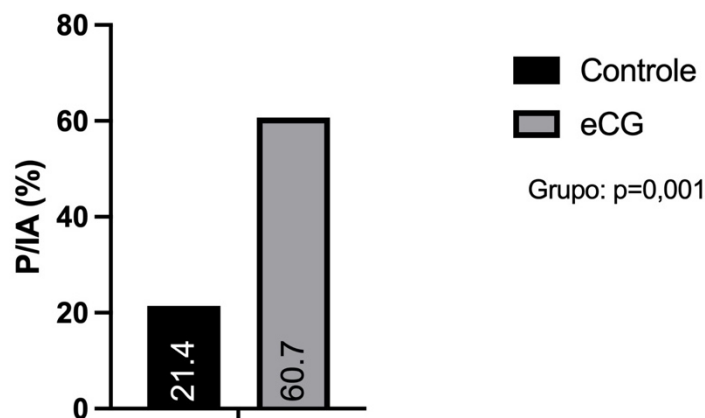


Fonte: a própria autora

Experimento 2

Observou-se efeito do tratamento com eCG na taxa de P/IA ($p=0,001$), sendo que 60,7% (17/28) das novilhas foram diagnosticadas como prenhes 30 dias após a IATF, em relação ao Grupo Controle, que apresentou 21,4% (6/28) de P/IA (Figura 8).

Figura 8 – Taxa de concepção (P/IA) no Experimento 2 em novilhas Aberdeen Angus 30 dias após a IA nos Grupos Controle (n=28) e eCG (n=28)



Fonte: a própr

DISCUSSÃO

O presente estudo analisou a influência da administração de 300UI eCG no D-2 do protocolo de IA e IATF em novilhas 14 meses alocadas em dois grupos: Controle (fêmeas que não receberam eCG) e eCG (fêmeas que receberam eCG). Em nosso estudo, verificamos a taxa acumulada de manifestação de estro após 72h de observação, em que se observou somente 53% dos animais do grupo Controle manifestaram o estro e foram inseminado ao final do experimento, comparados 84% do grupo eCG. Entretanto, Costa *et al.* (2015) verificou que não houve diferença estatística quanto a manifestação de estro em vacas sintéticas tratadas com eCG, visto que as taxas obtidas de expressão de estro foram de 60, 70 e 74% nos grupos controle, eCG 300 (administrado 300UI de eCG) e eCG 400 (administrado 400UI de eCG), respectivamente.

As avaliações ovarianas demonstraram que o crescimento do folículo dominante foi similar entre os grupos, não havendo diferença estatística, em que a média de diâmetro máximo mensurado no dia D0 foi de $8,37 \pm 0,47$ mm no Grupo Controle e $9,18 \pm 0,44$ mm no Grupo eCG. Contudo, esse resultado difere do encontrado por Sá Filho *et al.* (2010a) em vacas da raça Nelore em anestro, em que o tratamento com eCG aumentou as taxas de crescimento do folículo dominante em comparação ao Grupo Controle. Além disso, verificou-se um aumento na taxa de ovulação em novilhas *Bos indicus* tratadas com DIV e eCG, pois o Grupo eCG obteve 76,9% de ovulação em comparação a taxa de 50% do Grupo Controle. Entretanto, em nosso estudo a taxa de ovulação não apresentou diferença significativa ($p=0,26$) entre os grupos, na qual o Controle apresentou 66,6% (10/15) e o eCG 84,6% (11/13), podendo ser consequência do baixo número de animais que entraram no estudo.

Em estudo de Sá Filho *et al.* (2010b), observou-se maior diâmetro de CL e maiores concentrações de P₄ sérica no dia 5 após a IATF em novilhas tratadas com eCG, no entanto o estudo foi realizado em fêmeas zebuínas cíclicas de 24 a 36 meses de idade. Baruselli *et al.*, (2004) indicaram resultados semelhantes, o uso de eCG aumenta a produção de P₄ pelo CL em vacas em anestro e se torna uma alternativa para melhor o desempenho reprodutivo. Em contraponto, nosso estudo mensurou o diâmetro do CL e dosou concentrações de P₄ circulante 7 dias após a IA, em que foi observado que não houve diferença estatística entre os grupos Controle e eCG.

A taxa de concepção (P/IA) observada no presente estudo identificou que houve diferença estatística entre grupos no Experimento 2, com um aumento significativo no Grupo eCG; similar ao aumento encontrado por Sá Filho *et al.*, (2010b) e Sales *et al.*, (2011) na taxa

de P/IA no grupo tratado com eCG, que demonstrou que o efeito positivo do uso de eCG nas taxas de concepção está relacionado com sua influência no crescimento folicular, diâmetro do folículo dominante, taxa de ovulação, diâmetro de CL e concentrações séricas de P₄. Apesar disso, no Experimento 1 houve tendência na taxa de concepção entre grupos Controle e eCG. Com o Experimento 2 foi possível aumentar o número de animais, em que observamos o efeito positivo do eCG na P/IA. Um dado interessante que observamos no estudo foi que 100% das novilhas do Grupo eCG passaram pela puberdade durante o protocolo, em comparação 70% das novilhas do Grupo controle encontram-se cíclicas após o experimento.

CONCLUSÃO

Apesar do uso de eCG não promover aumento no diâmetro de folículo dominante, na taxa de ovulação, e incremento da função luteal, a tendência em maior manifestação estral indica haver maior concentração de estradiol. Ainda, observou-se efeito positivo na taxa de P/IA. Dessa forma, novos estudos devem ser conduzidos para avaliar a produção intrafolicular de estradiol.

REFERÊNCIAS

- ALEIXO, J. A. G. *et al.* Gonadotrofina coriônica eqüina: purificação, caracterização e resposta ovariana em ovinos e suínos. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 25, p. 111–114, 1995. Disponível em: 10.1590/S0103-84781995000100021. Acesso em: 5 jan. 2024.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos**, [s. l.], 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4411603/mod_resource/content/1/Importancia_do_emprego_da_eCG_em_protocolos_de_sin%281%29.pdf.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 82–83, Research and Practice III. 15th International Congress on Animal Reproduction, p. 479–486, 2004. Disponível em: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.025. Acesso em: 6 jan. 2024.
- COSTA, M. D. S. *et al.* Manifestação do estro e taxa de prenhez de vacas *Bos taurus* e sintéticas submetidas a protocolo de IATF com diferentes doses de eCG. [s. l.],
- MARTINEZ, M. F. *et al.* Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 23–33, 1999. Disponível em: 10.1016/S0378-4320(99)00057-3. Acesso em: 14 jan. 2024.
- MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 27–44, 1991. Disponível em: 10.1210/edrv-12-1-27.
- PAPKOFF, H. Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 397–404, 1974. Disponível em: 10.1016/0006-291X(74)90378-7. Acesso em: 5 jan. 2024.
- PERRY, G. A. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 86, n. 1, Proceedings of the 18th ICAR, p. 373–378, 2016. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.051. Acesso em: 6 jan. 2024.
- PTASZYNSKA, M. **Compêndio de Reprodução Animal**. 1. ed. [S. l.]: Intervet International, 2013.
- SÁ FILHO, M. F. de *et al.* Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular e na taxa de concepção de novilhas Nelore tratadas com implante auricular de Norgestomet e benzoato de estradiol. **Acta Scientiae Veterinariae**, [s. l.], v. 33, p. 265, 2005. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/item/001462823>. Acesso em: 20 jan. 2024.
- SÁ FILHO, M. F. *et al.* Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nelore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 73, n. 5, p. 651–658, 2010a. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2009.11.004. Acesso em: 6 jan. 2024.
- SÁ FILHO, M. F. *et al.* Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 118, n. 2, p. 182–187, 2010b. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432009002619>. Acesso em: 31 jan. 2024.

SALES, J. N. S. *et al.* Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled-anestrus Nelore beef cows. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 124, n. 1, p. 12–18, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378432011000467>. Acesso em: 1 fev. 2024.

SARTORELLI, E. S. *et al.* Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 63, n. 9, p. 2382–2394, 2005. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2004.08.017.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As fêmeas bovinas enfrentam inúmeros processos fisiológicos e morfológicos que levam à ocorrência da primeira ovulação e à obtenção da competência reprodutiva, caracterizando a puberdade. Diversas estratégias para indução de puberdade e manipulação do ciclo estral de fêmeas bovinas estão disponíveis atualmente, no entanto é necessário o conhecimento do momento do ciclo estral que as fêmeas estão responsivas à determinados protocolos e a forma de atuação dos hormônios no ciclo estral. Portanto para que haja melhor aproveitamento da produção pecuária, estudos buscam a influência e benefício da adição do eCG na fertilidade de novilhas e vacas submetidas à protocolos de IA e IATF. Há diversos estudos em animais zebuínos que demonstram o benefício do uso de eCG na taxa de crescimento do folículo dominante, no diâmetro do CL, nas concentrações séricas de P_4 e na taxa de ovulação, beneficiando uma maior taxa de concepção. Portanto, o estudo científico desenvolvido no presente trabalho buscou avaliar a influência da utilização de eCG no protocolo de IA e IATF em novilhas sintéticas e taurinas de 14 meses, que foram divididas em dois experimentos: Experimento 1 com Grupo Controle (fêmeas submetidas ao protocolo convencional de IA) e Grupo eCG (fêmeas submetidas ao protocolo de IA com uso de eCG), e Experimento 2 com grupo Controle (fêmeas submetidas ao protocolo convencional de IATF) e Grupo eCG (fêmeas submetidas ao protocolo de IATF com uso de eCG). Concluiu-se que a aplicação de eCG possui benefícios na taxa de P/IA, entretanto há a necessidade de outros estudos com número amostral maior.

REFERÊNCIAS

- ABIEC, A. B. das I. E. de C. **Beef Report - Perfil da pecuária no Brasil**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2023-capitulo-01/>. Acesso em: 8 jan. 2024.
- ALEIXO, J. A. G. *et al.* Gonadotrofina coriônica eqüina: purificação, caracterização e resposta ovariana em ovinos e suínos. **Ciência Rural**, [s. l.], v. 25, p. 111–114, 1995. Disponível em: 10.1590/S0103-84781995000100021. Acesso em: 5 jan. 2024.
- BALL, P. J. H.; PETERS, A. R. **Reproduction in Cattle: Third Edition**. 3. ed. [S. l.]: Oxford: Blackwell Publishing, 2007. Disponível em: DOI: 10.1002/9780470751091.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos**, [s. l.], 3º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2008. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/4411603/mod_resource/content/1/Importancia_do_emprego_da_eCG_em_protocolos_de_sin%281%29.pdf.
- BARUSELLI, P. S. *et al.* The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 82–83, Research and Practice III. 15th International Congress on Animal Reproduction, p. 479–486, 2004. Disponível em: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.025. Acesso em: 6 jan. 2024.
- BILBAO, M. G. *et al.* Extending the duration of treatment with progesterone and equine chorionic gonadotropin improves fertility in suckled beef cows with low body condition score subjected to timed artificial insemination. **Theriogenology**, [s. l.], v. 86, n. 2, p. 536–544, 2016. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2016.02.003. Acesso em: 25 dez. 2023.
- ELOY, L. R. *et al.* Direct and indirect nutritional factors that determine reproductive performance of heifer and primiparous cows. **Plos One**, [s. l.], v. 17, n. 10, p. e0275426, 2022. Disponível em: 10.1371/journal.pone.0275426. Acesso em: 23 dez. 2023.
- FIGUEIREDO, R. A. *et al.* Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, [s. l.], v. 47, n. 8, p. 1489–1505, 1997. Disponível em: 10.1016/S0093-691X(97)00156-8. Acesso em: 10 jan. 2024.
- FORDE, N. *et al.* Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 124, n. 3–4, p. 163–169, 2011. Disponível em: 10.1016/j.anireprosci.2010.08.025. Acesso em: 23 dez. 2023.
- GASPERIN, B. G.; SALES, J. N. S.; VASCONCELOS, J. L. M. Controle do Estro e da Ovulação em Ruminantes. *In*: BIOTÉCNICAS APLICADAS À REPRODUÇÃO ANIMAL E À HUMANA. 3. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2021.
- GINTHER, O. J. *et al.* Selection of the Dominant Follicle in Cattle. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 55, n. 6, p. 1187–1194, 1996. Disponível em: 10.1095/biolreprod55.6.1187. Acesso em: 25 dez. 2023.
- GORDON, I. R. **Reproductive Technologies in Farm Animals**. 1. ed. Massachusetts: CABI

Publishing, 2004.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas). , 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 8 jan. 2024.

JAISWAL, R. S.; SINGH, J.; ADAMS, G. P. Developmental Pattern of Small Antral Follicles in the Bovine Ovary1. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 1244–1251, 2004. Disponível em: 10.1095/biolreprod.104.030726. Acesso em: 25 dez. 2023.

KINDER, J. *et al.* Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. **Bioscientifica Proceedings**, [s. l.], 1995. Disponível em: 10.1530/biosciproc.3.030. Acesso em: 23 dez. 2023.

LOBATO, J. F. P. Gado de cria: tópico 1. Porto Alegre, v.1, 32p. 1985.

MACMILLAN, K. L.; SEGWAGWE, B. V. E.; PINO, C. S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 78, n. 3, Ovarian Follicle Development, p. 327–344, 2003. Disponível em: 10.1016/S0378-4320(03)00098-8. Acesso em: 6 jan. 2024.

MARTINEZ, M. F. *et al.* Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. **Animal Reproduction Science**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 23–33, 1999. Disponível em: 10.1016/S0378-4320(99)00057-3. Acesso em: 14 jan. 2024.

MIHM, M. *et al.* Molecular Evidence That Growth of Dominant Follicles Involves a Reduction in Follicle-Stimulating Hormone Dependence and an Increase in Luteinizing Hormone Dependence in Cattle1. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 74, n. 6, p. 1051–1059, 2006. Disponível em: 10.1095/biolreprod.105.045799. Acesso em: 25 dez. 2023.

MURPHY, B. D.; MARTINUK, S. D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrine Reviews**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 27–44, 1991. Disponível em: 10.1210/edrv-12-1-27.

OLIVEIRA, C. S.; SARAPIÃO, R. V.; QUINTÃO, C. C. R. Biotécnicas da Reprodução em Bovinos. In: SIMPÓSIO “BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO EM BOVINOS”, 2014, Juiz de Fora. **Biotécnicas da reprodução em bovinos: minicursos ministrados durante o 3º Simpósio “Biotécnicas da Reprodução em Bovinos”**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2014. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/117843/1/Cnpgl-2014-DOC-175-Biotecnicas-Repr-Bovinos.pdf>.

PAPKOFF, H. Chemical and biological properties of the subunits of pregnant mare serum gonadotropin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 58, n. 2, p. 397–404, 1974. Disponível em: 10.1016/0006-291X(74)90378-7. Acesso em: 5 jan. 2024.

PERRY, G. A. Factors affecting puberty in replacement beef heifers. **Theriogenology**, [s. l.], v. 86, n. 1, Proceedings of the 18th ICAR, p. 373–378, 2016. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.051. Acesso em: 6 jan. 2024.

PERRY, G. A. *et al.* Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers1. **Journal of Animal Science**, [s. l.], v. 85, n. 3, p. 684–689, 2007. Disponível em: 10.2527/jas.2006-519. Acesso em: 14 jan. 2024.

PTASZYNSKA, M. **Compêndio de Reprodução Animal**. 1. ed. [S. l.]: Intervet International, 2013.

RODRIGUES, H. D.; KINDER, J. E.; FITZPATRICK, L. A. Estradiol regulation of luteinizing hormone secretion in heifers of two breed types that reach puberty at different ages. **Biology of Reproduction**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 603–609, 2002. Disponível em: 10.1095/biolreprod66.3.603.

SÁ FILHO, M. F. *et al.* Manejo reprodutivo estratégico e IATF em novilhas e vacas primíparas zebuínas de corte. *In*: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2012, Londrina. **Biotecnologia da Reprodução em Bovinos**. Londrina: [s. n.], 2012. p. 49–81.

SALES, J. N. S. *et al.* Effects of two estradiol esters (benzoate and cypionate) on the induction of synchronized ovulations in *Bos indicus* cows submitted to a timed artificial insemination protocol. **Theriogenology**, [s. l.], v. 78, n. 3, p. 510–516, 2012. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2012.02.031. Acesso em: 4 jan. 2024.

SARTORELLI, E. S. *et al.* Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 63, n. 9, p. 2382–2394, 2005. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2004.08.017.

SENGER, P. L. **Pathways to Pregnancy and Parturition**. 2. ed. Pullman, Washington - Estados Unidos da América: Current Conceptions, Inc., 2003.

SOUZA, A. H. *et al.* Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, [s. l.], v. 72, n. 1, p. 10–21, 2009. Disponível em: 10.1016/j.theriogenology.2008.12.025. Acesso em: 4 jan. 2024.

VELHO, G. dos S. V. *et al.* Blood perfusion and diameter of bovine corpus luteum as predictors of luteal function in early pregnancy. **Reproduction in Domestic Animals** [s. l.], v. 54, p. 246–252, 2021. Disponível em: 10.1111/rda.14046.

YOUNGQUIST, R. S.; THRELFALL, W. R. **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. [S. l.]: Elsevier Health Sciences, 2006.