

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ASSOCIAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE GONODOTROFINA  
CORIÔNICA EQUINA (eCG) NO TRATAMENTO COM  
PROGESTÁGENOS E ESTRÓGENOS EM VACAS DE CORTE.**

**VIRGÍNIA CORDEIRO GONÇALVES**

**PORTO ALEGRE**

2001

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ASSOCIAÇÃO DE DIFERENTES DOSES DE GONODOTROFINA  
CORIÔNICA EQUINA (eCG) NO TRATAMENTO COM  
PROGESTÁGENOS E ESTRÓGENOS EM VACAS DE CORTE.**

**VIRGÍNIA CORDEIRO GONÇALVES \***

Dissertação apresentada como um dos requisitos  
para obtenção do grau de Mestre em Ciências  
Veterinárias na área de Reprodução Animal.

**Orientador:** Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory

**PORTO ALEGRE**

**Setembro de 2001**

---

\* Médica Veterinária

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory, pela orientação, amizade e confiança em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Costa Mattos, Prof. Dr. José Luiz Rodrigues, Prof. João Batista e Prof<sup>a</sup>. Véra Wald, muito obrigada pela amizade, incentivo e atenção dedicada.

Aos médicos veterinários, Paulo Ricardo L. Aguiar, Juliano Kummer e Hugo Zardo, pelo apoio, indispensável à realização deste trabalho, e oportunidades oferecidas.

Aos amigos, Anamaria Vargas, Marília Alves, Mariane Feser, Frederico Schmitt e Adriana Neves.

Ao grupo Grendene S/A, em especial ao gerente da Fazenda Ressaca, Sr. Moacir V. Flores, e funcionários.

Aos colegas, professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da FAVET/UFRGS.

Ao CNPQ, pela concessão da bolsa de estudos em nível de mestrado.

A minha mãe, Marly Cordeiro Gonçalves, e meus irmãos, Roberto e Soraya Cordeiro Gonçalves, pelo apoio, confiança e compreensão.

Ao meu noivo, Edson de Moura Braga Filho, pelo apoio, dedicação, presença constante, carinho e paciência nesta fase de ausência.

À Deus.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELA</b> .....	1
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	2
<b>RESUMO</b> .....	3
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	5
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	8
<b>2.1 Ciclo Estral na Fêmea Bovina</b> .....	8
<b>2.1.1 Fases do Ciclo Estral</b> .....	8
<b>2.1.1.1 Proestro</b> .....	8
<b>2.1.1.2 Estro</b> .....	9
<b>2.1.1.3 Metaestro</b> .....	10
<b>2.1.1.4 Diestro</b> .....	10
<b>2.1.2 Dinâmica Folicular</b> .....	11
<b>2.2 Métodos Hormonais de Sincronização do Estro</b> .....	13
<b>2.2.1 Prostaglandinas</b> .....	14
<b>2.2.2 Progestágenos</b> .....	16
<b>2.2.2.1 Progestágenos e estrógenos</b> .....	18
<b>2.2.2.2 Progestágenos, estrógenos e eCG</b> .....	20
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	25
<b>3.1 Experimento 1</b> .....	25
<b>3.1.1 Local e Data</b> .....	25
<b>3.1.2 Animais</b> .....	25
<b>3.1.3 Delineamento Experimental</b> .....	26
<b>3.1.4 Inseminação Artificial</b> .....	26
<b>3.1.5 Diagnóstico de Gestação</b> .....	26

<b>3.2 Experimento 2</b> .....	27
3.2.1 Local e Data.....	27
3.2.2 Animais.....	27
3.2.3 Delineamento Experimental.....	27
3.2.4 Diagnóstico de Estro e Inseminação Artificial.....	28
3.2.5 Diagnóstico de Gestação.....	28
3.2.6 Controle de Parições.....	28
<b>3.3 Análise Estatística</b> .....	28
<b>4 RESULTADOS</b> .....	29
4.1 Experimento 1.....	29
4.2 Experimento 2.....	30
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	32
5.1 Experimento 1.....	32
5.2 Experimento 2.....	34
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	37
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	38
<b>ABSTRACT</b> .....	50

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Grupos experimentais (Experimento 1) e doses de eCG aplicadas na retirada do implante.....	26
TABELA 2	Grupos experimentais (Experimento 2) e doses de eCG aplicadas na retirada do implante.....	28
TABELA 3	Taxas de prenhez nos diferentes grupos experimentais após a IA.....	29
TABELA 4	Taxas de prenhez nos diferentes grupos experimentais após a estação reprodutiva.....	30
TABELA 5	Taxas dos animais em estro nos diferentes grupos experimentais.....	30
TABELA 6	Taxas de prenhez nos diferentes grupos experimentais.....	31
TABELA 7	Taxas de prenhez nos animais que apresentaram ou não sinais de estro.....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS

BE	Benzoato de Estradiol
CL	Corpo Lúteo
ECC	Escore de Condição Corporal
eCG	Gonadotrofina Coriônica Eqüina
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
g	Gramas
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
h	Hora
IA	Inseminação Artificial
IAs	Inseminações Artificiais
im	Intramuscular
LH	Hormônio Luteinizante
mg	Miligrama (s)
mm	Milímetro (s)
MN	Monta Natural
N	Norgestomet
n	número de animais
ng/ml	Nanograma/Mililitro
PGF <sub>2α</sub>	Prostaglandina F2 alfa
UI	Unidade Internacional
VE	Valerato de Estradiol
vs.	Versus
%	Por cento
17β-E	17 beta Estradiol

## RESUMO

### **Associação de Diferentes Doses da Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) no Tratamento com Progestágenos e Estrógenos em Vacas de Corte.**

Autor: Virgínia Cordeiro Gonçalves

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory

Dois experimentos foram realizados com o objetivo de verificar o efeito de diferentes doses de eCG, após tratamento com progestágeno e estrógeno, sobre a fertilidade de vacas de corte. No experimento 1 foram utilizadas 133 vacas tipo Braford (½ Nelore x ½ Hereford), múltiparas, 150 a 155 dias pós-parto, com idades entre 4 e 6 anos e escore de condição corporal (ECC) médio de 3 (escala de 1-5). Todos os animais foram submetidos a colocação de implante auricular subcutâneo (dia 0) contendo 3 mg de norgestomet (N) e aplicação de solução injetável intramuscular (im) de 3 mg de N e 5 mg de valerato de estradiol (VE). No momento da retirada do implante (dia 10), as vacas foram separadas, aleatoriamente, em 4 grupos distintos: Grupo I (n=33): não recebeu eCG; Grupo II (n=34): 300 UI de eCG; Grupo III: 500 UI de eCG e Grupo IV: 700 UI de eCG. As inseminações artificiais (IAs) foram realizadas em tempo fixo, de 52-54 hs após a retirada do implante, com sêmen de qualidade comprovada através de avaliação prévia. Após 15 dias, as fêmeas permaneceram com touros por 45 dias afim de serem submetidas a monta natural (MN) caso retornassem ao estro. Aos 40 e 100 dias após a IA foi realizado, mediante palpação retal, o diagnóstico de gestação para identificação dos animais que conceberam por IA ou MN respectivamente. As taxas de prenhez da IA foram: Grupo I: 33,3% (11/33); Grupo II: 50,0%(17/34); Grupo III: 39,4% (13/33); Grupo IV: 45,5% (15/33). Para a análise estatística das variáveis foi utilizado o teste Qui-Quadrado. As taxas de prenhez não foram diferentes estatisticamente ( $p=0,539$ ) em relação a dose de eCG utilizada. As taxas de prenhez totais, após a temporada de MN, foram: Grupo I: 78,8% (26/33); Grupo II: 79,4% (27/34); Grupo III: 90,9% (30/33); Grupo IV: 75,8% (25/33). Também não houve diferença estatística ( $p=0,411$ ) entre os grupos. No Experimento 2, foram utilizadas 56 vacas ( 27 Nelore x Charolês e 26 Braford), múltiparas, não lactantes, cíclicas, com idades variando entre 4 e 7 anos e ECC médio de 3,5. As fêmeas receberam aplicação de implante auricular subcutâneo de 3 mg N e aplicação injetável (im) de 3 mg de N e 5 mg de VE no momento da colocação do implante (dia 0). No momento da retirada do implante (dia 10) os animais foram divididos em 3 grupos com a finalidade de receber aplicação injetável (im) de eCG: Grupo I (n=18): 500 UI eCG; Grupo II (n=19): 1.000 UI eCG e Grupo III (n=19): 1.200 UI eCG. A partir do dia seguinte à retirada do implante e

aplicação de eCG, os animais tiveram o estro controlado, duas vezes ao dia em intervalos de 12 hs. As IAs foram realizadas 12 hs após a identificação do estro. Nos animais em que o estro não foi identificado, realizou-se IA em tempo fixo de 52-54 hs após a retirada do implante. O diagnóstico de gestação foi realizado mediante palpação retal aos 45 dias após a IA. Os animais diagnosticados prenhes foram acompanhados durante o período de parição com o propósito de avaliar o número de produtos nascidos, já que foram utilizadas altas doses de eCG que poderiam originar nascimentos múltiplos. Através do Qui-Quadrado, primeiramente analisou-se a presença dos sinais de estro em relação a dose de eCG utilizada a cada grupo. No intervalo de 36 a 48 hs após a retirada do implante, 87,5% do animais apresentaram estro. Não houve diferença significativa ( $p=0,866$ ) entre os grupos, indicando ausência de relação entre estro e dose de eCG utilizada. As taxas de prenhez obtidas em cada grupo também não resultaram diferentes ( $p=0,25$ ) em função da dosagem de eCG utilizada. Grupo I: 44,4% (8/18); Grupo II: 36,8% (7/19), Grupo III: 63,2% (12/19). Os índices de prenhez dos animais que não demonstraram sinais de estro e que foram inseminados em tempo fixo, foram analisados mediante Regressão Logística e não diferiram ( $p=0,666$ ) daqueles que foram inseminados 12 hs após a detecção do estro. Não foram observados partos gemelares e distocia nas vacas dos diferentes grupos experimentais. Nas condições de realização destes experimentos, o uso de eCG, ao final do tratamento com progestágenos e estrógenos, não interferiu nos resultados de prenhez em vacas não-lactantes ou lactantes, inseminadas 12 hs após o estro ou em tempo fixo, não demonstrou efeito sobre o aparecimento de estro em vacas solteiras e, nas doses utilizadas, não originou partos gemelares. A IA de vacas não-lactantes realizada em tempo fixo de 52-54 hs após o tratamento apresentou resultados de prenhez semelhantes aos observados nas IAs realizadas 12 hs após a identificação do estro.

**Palavras-chave:** eCG, norgestomet, valerato de estradiol, vacas, fertilidade, inseminação artificial em tempo fixo.

## **1 INTRODUÇÃO**

A atual situação econômica da pecuária nacional exige que os produtores operem com máxima eficiência para manter a rentabilidade da atividade. A otimização da eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que contribuem para melhorar a performance e lucratividade dos rebanhos (Baruselli et al., 2001).

A inseminação artificial (IA) é a técnica mais importante já idealizada para o melhoramento genético dos animais (Hafez, 1995). Apesar de seu significado, Odde (1990) estimou que menos de 5% do rebanho de corte dos Estados Unidos seja inseminado. No Brasil, a situação não é diferente. Ribeiro Filho et al.(1999a) estimaram que, em 1996, somente 3,8% das fêmeas, tanto de leite como de corte, em idade reprodutiva, foram inseminadas.

Um dos principais fatores que determinam o sucesso de um programa de inseminação artificial é a detecção do estro, a qual requer tempo e pessoal adequadamente treinado (Barros et al., 2000a). Provavelmente, este seja o maior fator limitante para o desenvolvimento da indústria da IA.

Segundo Foote (1975), a eficiência da detecção visual do estro depende de grande número de fatores. Em primeiro lugar, deve-se saber reconhecer os sinais de estro, para determinar se o animal deve ou não ser inseminado, e em qual horário deve realizar-se a inseminação.

Experimentos realizados na Argentina, Brasil e Austrália demonstram que os animais de raças sintéticas com sangue índico, como os da raça Braford, têm uma

alta taxa de estros de duração menor que 12 horas (hs) associada a uma ocorrência de 30 a 50 % de estros noturnos (Barros et al., 1995). Estes aspectos, bem como a deficiência na detecção do estro, contribuem para transformar programas convencionais de IA em uma atividade, muitas vezes, ineficiente.

As dificuldades em detectar o estro, têm estimulado o desenvolvimento de métodos alternativos para sincronizá-lo e induzi-lo de forma controlada. Existem benefícios econômicos e de manejo com um controle efetivo do início do estro e do momento da realização da IA. O interesse inicial do controle do ciclo estral está relacionado principalmente ao seu uso potencial como método auxiliar na difusão da IA nos bovinos (Dick, 1999).

Assim, vários protocolos de sincronização de estro com indução da ovulação têm sido desenvolvidos possibilitando a realização da IA em tempo fixo. A IA em tempo fixo é uma técnica na qual pode-se inseminar as fêmeas sem a necessidade de observação e detecção de estros. Através desta tecnologia, reduz-se o tempo e o trabalho requeridos à prática de IA, ampliando e otimizando o emprego desta biotécnica tão importante para o melhoramento genético dos rebanhos.

Para obter-se a máxima fertilidade nos esquemas de IA em tempo fixo é necessário controlar: o corpo lúteo (CL), o desenvolvimento folicular e a ovulação. Para controlar a fase luteal pode-se induzir a regressão do CL com prostaglandinas ( $\text{PGF}_{2\alpha}$ ), ou prolongá-la mediante dispositivos que promovem a liberação lenta de progestágenos. Para controlar o desenvolvimento folicular pode-se utilizar o hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) ou hormônio luteinizante (LH), que induzem a luteinização e/ou ovulação do folículo dominante, ou estrógenos associados a progestágenos que suprimem, mediante um “feed-back” negativo na liberação das gonadotrofinas, o desenvolvimento do folículo, resultando no começo de uma nova onda folicular (Mapletoft et al., 1999a).

Com a finalidade de estimular o desenvolvimento final do folículo dominante, melhorando assim os índices de concepção nos animais inseminados, vários trabalhos têm sido realizados utilizando Gonadotrofina Coriônica Equina (eCG) ao final do tratamento com progestágenos e estrógenos (Mulvehill & Sreenan, 1977; Humbolt et al., 1996; Cavalieri et al., 1997; Duarte et al., 2000 ).

O objetivo deste estudo foi verificar o efeito de diferentes doses de eCG, ao final do tratamento com progestágenos e estrógenos, sobre os índices de prenhez de vacas de corte lactantes e não lactantes, inseminadas em tempo fixo ou 12 hs após detecção do estro.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Ciclo Estral na Fêmea Bovina**

O ciclo estral pode ser definido como a seqüência de eventos endócrinos, morfológicos e comportamentais que ocorrem entre duas ovulações sucessivas.

A fêmea bovina é um animal poliéstrico anual e cada ciclo estral tem duração média de 21 dias, com variações entre 17 e 23 dias. As modificações ocorridas durante o ciclo estral bovino estão reguladas por uma interação entre os hormônios sintetizados e secretados pelo hipotálamo, hipófise, ovários e útero, constituindo, o que se conhece comumente, como eixo hipotalâmico-hipofisiário-gonadal-uterino.

#### **2.1.1 Fases do ciclo estral**

O ciclo estral na fêmea bovina compreende quatro fases distintas: proestro; estro; metaestro e diestro.

##### **2.1.1.1 Proestro**

Nesta fase, as vacas demonstram tendência para aproximação a outros animais, procurando repetidamente saltar sobre as demais, sem, no entanto, permitir a monta. Durante o exame ginecológico interno e externo, percebe-se a edemaciação vulvar, bem como o aumento de secreção com tendência à coleção de muco vaginal. Há maior contratilidade do útero com aumento de turgidez de suas paredes, conseqüente à congestão vascular. Nos ovários, paralelamente à regressão do CL, observa-se o desenvolvimento de um folículo De Graaf com crescente flutuação. Em corte histológico do endométrio observa-se o início da fase proliferativa, conseqüente

ao aumento no nível de estrógenos circulantes (Grunert & Gregory, 1984). O proestro dura de 2 a 3 dias.

#### **2.1.1.2 Estro**

O estro é definido como período de receptividade sexual e sua duração é de 18 hs em média, com variações de 12 a 30 hs (Jainudeen & Hafez, 1995). A duração relaciona-se, entre outros fatores, com a raça, condições alimentares e ambientais.

Nesta fase, sob influência do elevado teor de estrógenos produzidos pela teca interna e camada granulosa dos folículos, observam-se as maiores alterações comportamentais do ciclo estral, tais como farejar, lambe animais, tentativas repetidas de salto sobre as companheiras e aceitação de monta por parte de machos e fêmeas (Grunert & Gregory, 1984).

Pela exploração retal percebe-se, em um dos ovários, um folículo De Graff com acentuada flutuação e, no mesmo ovário ou no outro, um CL residual afuncional (Grunert & Gregory, 1984). O folículo De Graff secreta estrógenos, particularmente o  $17\beta$  estradiol ( $17\beta$ -E). Os crescentes níveis de estradiol induzem ao estro comportamental e, em combinação com os níveis de progesterona em declínio, acionam o pico de LH (Jainudeen & Hafez, 1995). O estrógeno dilata a cérvix, de modo que um catéter pode ser introduzido no útero mais rapidamente do que em qualquer outro estágio do ciclo estral, além de aumentar a contratilidade e a tonicidade do útero (Jainudeen & Hafez, 1995).

O exame vaginal demonstra acúmulo de muco e intensa hiperemia da mucosa. Histologicamente, a mucosa uterina revela hipertrofia e hiperplasia e, por este motivo, esta fase recebe a denominação de fase de proliferação endometrial. Nas primeiras horas do estro observa-se um pico plasmático de LH hipofisiário que, no início do metaestro, virá a provocar a ovulação e o desenvolvimento do CL (Grunert & Gregory, 1984).

### **2.1.1.3 Metaestro**

O metaestro inicia-se a partir do momento em que desaparece a tolerância à monta e tem duração de 2 a 3 dias. Durante o metaestro ocorre a ovulação, que acontece 10 a 12 hs após o final do estro. A rápida suspensão de secreção de estrógenos após a ovulação causa hemorragias petequiais no endométrio e a presença de sangue no corrimento vulvar. O sangramento do metaestro não relaciona-se à concepção, trata-se apenas de uma indicação de que o animal esteve em estro. Nesta fase do ciclo estral desaparece gradualmente a dilatação da cérvix, o folículo se colapsa após a ovulação e a cavidade preenche-se com células luteínicas (Jainudeen & Hafez, 1995).

O útero apresenta grau de contratilidade menor que no estro. O exame vaginal demonstra a presença de pequenas quantidades de muco. No endométrio observa-se, histologicamente, a proliferação glandular (Grunert & Gregory, 1984).

### **2.1.1.4 Diestro**

Durante o diestro o trato genital acha-se sob influência da progesterona produzida pelo CL. A partir do 4º dia do ciclo, ou seja, após o início do diestro, pode-se detectar níveis crescentes de progesterona no plasma sanguíneo e leite. A partir do 5º dia do ciclo estral, pela palpação retal, encontra-se no local da ovulação o CL em crescente desenvolvimento, o qual atinge sua maturação completa entre o 8º e 12º dia (Grunert & Gregory, 1984).

O endométrio torna-se espesso e a progesterona estimula as glândulas uterinas, preparando o endométrio para a fixação e nutrição do embrião, relaxa a musculatura uterina e interrompe a ciclicidade folicular. Se houver fecundação e desenvolvimento do embrião, o CL mantém sua atividade até o final da gestação (Kolb, 1979). No 18º dia, caso não tenha ocorrido a concepção, inicia-se então a regressão do CL sob influência da  $PGF_{2\alpha}$  secretada no endométrio (Grunert & Gregory, 1984). Com isso, elevam-se os níveis de LH e do hormônio folículo estimulante (FSH) e um novo ciclo inicia.

Durante o diestro, paralelo ao CL, percebe-se a existência e desenvolvimento de alguns folículos terciários que, no entanto, na sua maioria, tornar-se-ão atrésicos, não chegando a maturidade. Estes folículos não chegam a ovular devido ao alto teor de progesterona produzido pelo CL. No fim do diestro, sob a ação do FSH hipofisário, inicia-se o processo de crescimento de um folículo terciário responsável pela ovulação do próximo ciclo. As ações da progesterona são opostas às daquelas do estrógeno. Durante a fase luteínica, o muco cervical é espesso e viscoso, o canal cervical está firmemente fechado e o útero flácido, não apresentando tônus (Jainudeen & Hafez, 1995). O corte histológico revela glândulas uterinas em secreção, sendo o diestro, por este motivo, considerado fase secretora do endométrio (Grunert & Gregory, 1984).

### **2.1.2 Dinâmica Folicular**

O crescimento dos folículos ovarianos em bovinos ocorre em um padrão denominado ondas de crescimento folicular (Bó et al., 1994).

Durante um ciclo estral há normalmente a emergência de duas ou três ondas de crescimento folicular. Cada onda envolve o desenvolvimento síncrono de um grupo de folículos, sendo caracterizada pelas fases de recrutamento, seleção, dominância e atresia folicular (Kastelic, 1994). São geralmente em torno de 10 a 50 folículos neste grupo com tamanho em torno de 2 a 3 mm. Uma parte destes folículos cresce para 4 a 6 mm, sendo que dois a cinco folículos maiores do grupo continuarão a crescer enquanto os outros regridem. Deste grupo de folículos pelo menos um continua seu crescimento, tornando-se dominante (Bodensteiner, 1996).

O desenvolvimento do folículo dominante é dividido em três categorias: fase de crescimento, estática e de regressão. Na primeira onda de crescimento folicular, a fase de crescimento vai desde a emergência até em torno do 8º dia após o estro; a fase estática ocorre entre o 8º e 10º dia e a fase de regressão ocorre após o 10º dia. Por volta do 10º dia do ciclo estral ocorre emergência da segunda onda de crescimento folicular e o processo se reinicia. O folículo dominante, desta segunda onda

de crescimento folicular, regride (se houver três ondas) ou torna-se o folículo ovulatório (se forem apenas duas ondas). O que determina se irão ocorrer duas ou três ondas de crescimento folicular é a duração da fase lútea. Em ciclos estrais normais, caso a regressão do CL ocorra enquanto o folículo dominante da segunda onda continua funcional (fase de crescimento ou estática) ele será o folículo ovulatório (ciclo estral com duas ondas). Entretanto, caso o folículo já tenha iniciado a fase de regressão no momento da luteólise, haverá o surgimento da terceira onda de crescimento folicular (Kastelic et al., 1990).

Para o padrão de duas ondas, a primeira inicia-se no dia 0 (dia da ovulação) e a segunda começa no dia 10. Para o padrão de três ondas, a emergência das ondas ocorre nos dias 0, 9 e 16, sendo as duas primeiras anovulatórias. As características do folículo dominante da primeira onda não são diferentes quando comparado com o padrão de duas ondas e o padrão de três ondas; porém a segunda onda emerge 1 a 2 dias mais cedo nos animais com 3 ondas, que nos animais com 2 ondas. Existe uma grande variabilidade individual no dia da emergência de cada onda, especialmente a segunda, que pode começar entre os dias 6 a 12. O CL começa sua regressão mais cedo nos ciclos de duas ondas (dia 16) que nos ciclos de três ondas (dia 19) afetando o intervalo interovulatório para 20 e 23 dias, respectivamente (Ginter et al., 1989).

O desenvolvimento folicular está controlado pela secreção de hormônios provenientes da hipófise, CL e dos folículos. Observa-se que cada onda folicular está sempre precedida por uma onda de FSH. Acredita-se que este pico é fundamental para que os folículos antrais pequenos ingressem no grupo de folículos maiores. O aumento do FSH permite o crescimento folicular suficiente para que alguns folículos adquiram a capacidade de responder ao LH. Ao mesmo tempo que os perfis de crescimento do folículo dominante e dos subordinados começam a diferenciar-se (momento de seleção), o FSH declina rapidamente, ao redor do 2<sup>o</sup> dia da emergência da onda (Bó et al., 2000a). O folículo destinado a ser dominante aparentemente tem mais receptores de LH, vantagem competitiva sobre os outros destinados a serem subordinados, que lhe permite sobreviver sem FSH (Ginter et al., 1996).

No início da onda o folículo dominante começa a produzir grandes quantidades de estradiol e inibina que atuarão, a nível hipotalâmico-hipofisiário, inibindo a liberação de FSH. Com pouco FSH circulante os folículos subordinados começam a regredir (Bó et al., 2000a).

Durante o diestro (fase luteal) os altos níveis de progesterona afetarão adversamente a frequência dos pulsos de LH e induzirão a regressão do folículo dominante (Bó et al., 1994). A progesterona secretada pelo CL produz efeito negativo na liberação de LH e, por esta razão, não ocorre ovulação. Entretanto, segundo Bó et al. (2000a), a supressão da progesterona, em consequência à luteólise, permite o aumento da frequência dos pulsos de LH, maior crescimento do folículo dominante e concentrações muito altas de estradiol o que induzirá um pico de LH seguido pela ovulação.

## **2.2 Métodos de Sincronização do Estro**

A detecção do estro e a fertilidade pós-parto constituem os dois fatores mais importantes que condicionam a eficiência reprodutiva em bovinos (Alvarez et al., 1999). O sucesso dos programas de IA tem relação direta com a precisão da detecção do estro.

Erros na interpretação do estro podem contribuir para a baixa concepção dos animais inseminados. Utilizando métodos de análise de progesterona no sangue e no leite, estudos mostraram que 5 a 30% dos animais inseminados não estavam em estro no momento da IA (Senger, 1994).

Na busca do incremento à produtividade do rebanho de corte, a sincronização do estro é uma ferramenta de grande importância (Barufi et al., 1999). Segundo Odde (1990), a sincronização do estro implica na utilização de tratamentos hormonais para induzir um maior número de fêmeas ao estro em um determinado período de tempo.

O êxito dos programas de sincronização de estros baseia-se no conhecimento de três áreas fundamentais: a) fisiologia do ciclo estral da vaca; b) produtos farmacológicos e seus efeitos sobre o ciclo estral; e c) fatores de manejo do rebanho que reduzem o anestro e aumentam as taxas de prenhez (Mapletoft et al., 1999a).

A utilização de terapias hormonais como as prostaglandinas, os progestágenos e suas associações, tanto para induzir quanto para sincronizar o estro, permite diminuir o período de acasalamentos, sincronizar os nascimentos e desmamar os produtos em épocas convenientes, além de simplificar a mão de obra dispensada com a rotina do manejo reprodutivo.

### **2.2.1 Prostaglandinas**

A partir da comprovação dos efeitos luteolíticos da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  em bovinos por Rowson et al. (1972), vários análogos desta luteolisina foram sintetizados e comercializados com o intuito de controlar o ciclo estral (Odde, 1990; Larson & Ball, 1992). O tratamento com  $\text{PGF}_{2\alpha}$  causa a regressão de um CL maduro. Em alguns animais, o CL pode chegar a responder à  $\text{PGF}_{2\alpha}$  5 ou 6 dias depois do estro, porém, a luteólise é mais eficiente quando esta for aplicada a partir do 7° ou 8° dia depois do estro (Odde, 1990).

Existem vários protocolos de sincronização de estros em que a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é empregada. A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pode ser utilizada em dose única, requerendo porém identificação prévia da presença do CL. A fim de evitar a fase inicial do ciclo estral, duas doses de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  podem ser administradas com intervalos de 11 a 14 dias, obtendo-se assim melhores índices de sincronização do estro após a segunda dose (Odde, 1990).

Uma das limitações da utilização de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é a baixa taxa de sincronização na indução de estro (Tanabe & Hann, 1984). O tempo entre a aplicação da  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e a manifestação do estro em bovinos varia de acordo com o estágio de desenvolvimento

folicular no momento de sua administração (Savio et al., 1990; Kastelic et al., 1990).

Bó et al.(1995a) afirmam que uma das maiores deficiências da sincronização de estro com  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é a baixa fertilidade resultante, nos casos em que se utiliza esquemas de IA em tempo fixo. A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  controla somente a regressão do corpo lúteo, por este motivo, quando aplicada visando sincronizar o estro e a ovulação, os resultados observados são baixos devido à variabilidade da duração da fase e tamanho do folículo dominante (Pursley et al., 1995). Baseados neste fato, Barros et al. (2000a) afirmam que a administração de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  nos dias 6 ou 7 do ciclo estral permite rápida maturação e ovulação do folículo dominante da primeira onda, enquanto se a administração se der após o dia 11, serão necessários de 3 a 5 dias para que ocorra a seleção e maturação de um novo folículo, resultando num intervalo maior entre o tratamento e a ovulação

Tratamentos hormonais que visam a utilização da IA em tempo fixo têm utilizado associações com  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , objetivando melhores índices de sincronização do estro. A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  pode ser utilizada em combinação com progestágenos afim de promover melhor sincronização do estro, especialmente se for administrada entre 24 e 48 hs antes da retirada do progestágeno (Smith et al., 1984; Odde, 1990; Macmillan et al., 1995; Madureira et al., 1997; Mialot et al., 1998). A utilização de progesterona, benzoato de estradiol (BE) e  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , associada com inseminação em tempo fixo, é um método alternativo sobre os tradicionais sistemas baseados em tratamentos somente com  $\text{PGF}_{2\alpha}$ , detecção do estro e inseminação artificial (Lago et al., 2000). Segundo Schmitt et al. (1996), é possível que o aumento da secreção pulsátil de LH, durante o período entre a luteólise induzida pela  $\text{PGF}_{2\alpha}$  exógena e a remoção do progestágeno, permita um crescimento mais uniforme do folículo pré-ovulatório.

A administração de GnRH no diestro seguida, 6 ou 7 dias após, pela aplicação de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  é um sistema eficaz para sincronização do estro, resultando em boa fertilidade, com taxa de concepção entre 65 a 85% (Guilbault et al., 1991). Segundo

Wiltbank et al. (1996), o intervalo de 7 dias entre a aplicação de GnRH e PGF<sub>2α</sub>, permite tempo suficiente para a maturação e resposta do CL à PGF<sub>2α</sub>. A administração de uma segunda dose de GnRH, 24 a 48 hs após a PGF<sub>2α</sub>, concentra as ovulações dentro de um período de 8 a 12 hs, permitindo a realização da IA com tempo fixo de 16 a 24 hs após a segunda dose de GnRH (Pursley et al., 1995; Barros et al., 2000b) ou no mesmo momento da aplicação da segunda dose, com resultados de prenhez semelhantes (Ribeiro et al., 1999b). Colazo et al. (1999) concluíram que o protocolo de GnRH e PGF<sub>2α</sub> resulta em uma maior homogeneidade do tamanho folicular nas 48 hs após a aplicação de PGF<sub>2α</sub> e uma percentagem de prenhez semelhante ao esquema tradicional de duas aplicações de PGF<sub>2α</sub> com 11 dias de intervalo, podendo, assim, ser utilizado em programas de IA em tempo fixo em vacas de corte, com cria ao pé, cíclicas e com boa condição corporal.

### **2.2.2 Progestágenos**

Nos anos 50, diversos progestágenos, grupo de compostos similares a progesterona, ativos por via oral, foram sintetizados (Zimbelman & Smith, 1966) mas, somente na década de 60, é que estes esteróides começaram a ser empregados na sincronização do estro de bovinos (Hansel & Convey, 1983). Dentre estes compostos pode-se citar os progestágenos de administração oral como o Acetato de Melengestrol (MGA), Medroxiprogesterona (MAP), Acetato de Clormadiona (CAP), os implantes auriculares subcutâneos de norgestomet e os dispositivos intravaginais com progesterona.

O MGA é um progestágeno sintético, ativo por via oral, que suprime o estro e a ovulação durante o período de tratamento (Zimbelman & Smith, 1966; Randel et al., 1972). A utilização diária de MGA (0,5 mg/vaca/dia) administrado na ração ou no sal mineral de bovinos por períodos superiores a 14 dias, promove sincronização do estro na grande maioria dos animais tratados, porém resulta em baixa taxa de prenhez (Rajamahendram & Taylor, 1991). Vários fatores foram relacionados com esta baixa fertilidade, como defeito no transporte espermático e uma má qualidade do oócito (Kerr et al., 1991; Smith et al., 1995).

O crescimento de um folículo dominante impede o começo de uma nova onda folicular. Concentrações plasmáticas baixas de progesterona, produzidas pelos dispositivos com progestágenos (em ausência de CL), induzem o desenvolvimento de um folículo dominante persistente que, por sua vez, ovula um oócito de má qualidade (Sanchez et al., 1995). De acordo com Mihm et al. (1994), a alta frequência de pulsos de LH, em virtude de baixas concentrações plasmáticas de progesterona, ativa o oócito para que continue com a meiose de maneira que, quando termina a fonte de progesterona, o folículo ovulatório contém um oócito envelhecido e resulta em uma baixa fertilidade.

Os implantes auriculares subcutâneos contém um progestágeno sintético denominado norgestomet (N). Atualmente, existem dois produtos comerciais com diferenças relativas ao material do implante (silicone e hidrônico) e a quantidade de norgestomet (3 mg e 6 mg, respectivamente) contida em cada um deles (Kastelic et al., 1997). No implante de silicone, a liberação de norgestomet é consistente e linear, enquanto que a secreção pelo implante hidrônico é, inicialmente, muito rápida e depois muito lenta (Kesler et al., 1995). Mapletoft et al. (1999b) testaram os diferentes implantes e concluíram não haver diferença na eficácia dos dois produtos comerciais. Segundo Bó (2000), mesmo as doses de N sendo distintas nos dois produtos comerciais, a liberação na circulação é similar devido a diferente composição química do veículo do implante. Os implantes devem permanecer por 9 ou 10 dias nos animais.

Os dispositivos intravaginais liberadores de progesterona também possuem doses distintas, dependendo do fabricante, podendo conter 1.9 , 1.62, 1.55 ou 1 g de progesterona (Bó et al., 2001). Estes dispositivos permanecem na cavidade vaginal por 7 a 12 dias, alcançando concentrações circulantes de progesterona (4-5 ng/ml) similares às de uma fase luteal (Macmillan & Peterson, 1993).

### 2.2.3 Progestágenos e Estrógenos

Wiltbank & Kasson (1968) observaram que os tratamentos com progestágenos por menos que 14 dias não reduziam a taxa de concepção mas que, para serem eficazes, um agente luteolítico deveria ser incorporado ao sistema de sincronização.

O uso de estrógenos, como agentes luteolíticos em conjunto com progestágenos, foi inicialmente descrito por Wiltbank et al. (1965). A utilização de progesterona e estrógeno para suprimir o desenvolvimento do folículo dominante, e desta forma sincronizar o desenvolvimento de uma nova onda folicular, foi investigado em vários experimentos (Bó et al., 1994; Bó et al., 1995ab; Caccia & Bó., 1998). As conclusões mais importantes foram de que o tratamento com progestágenos associados ao  $17\beta$ -E ou BE, administrados em qualquer momento do ciclo estral, induzem o crescimento síncrono de uma nova onda folicular, aproximadamente 4 dias após (Bó et al., 1995b; Caccia & Bó., 1998).

Wiltbank & Gonzales-Padilha (1975) verificaram que 9 dias de implante contendo 6 mg de norgestomet (N) associado a uma injeção de 5 mg de valerato de estradiol (VE) e 3 mg de N sincronizava e induzia com sucesso o estro de novilhas de corte acíclicas. Esta combinação de progesterona e estrógeno resultou no surgimento de dois produtos comerciais onde, além do implante, também é utilizada uma solução injetável contendo VE + N. Na prática, trata-se de um implante subcutâneo, auricular, contendo um progestágeno sintético denominado norgestomet (N), que permanece por 9 ou 10 dias no animal. Combinado a este implante, uma solução injetável, intramuscular, de 5 mg de VE e 3 mg de N é administrada no momento da inserção do implante. O objetivo do N é permitir a obtenção imediata de concentrações circulantes de progestágeno, que serão mantidos com a liberação lenta do implante subcutâneo. O propósito da injeção de VE é de induzir a luteólise de eventuais CL presentes (Bó, 2000).

Os tratamentos com implantes auriculares têm sido utilizados por uma grande quantidade de produtores em todo o mundo para sincronizar estros em novilhas e vacas pós-parto. Na maioria dos trabalhos, aproximadamente 90% dos animais tratados mostram estro pouco tempo depois da remoção do implante. Entretanto, a fertilidade é variável, com percentagens de prenhez de 33 a 68% descritas por Odde (1990) e de 14 a 60% por Kesler & Fávero (1996). Estas taxas são influenciadas por eventuais disfunções luteais (Favero et al., 1988) ou produções insuficientes de LH após a remoção do implante (Hixon et al., 1981). Segundo Odde (1990), o dia do ciclo estral em que o tratamento é iniciado, assim como o escore de condição corporal dos animais (ECC) (Dunn & Kaltembach, 1980), também influencia nos resultados de fertilidade.

As diferenças nos índices de prenhez obtidos nos experimentos podem estar associadas a proporção de animais ciclando no momento do tratamento. Segundo Mares et al. (1977), se menos de 50% do grupo de vacas tratadas não estão ciclando, os resultados de prenhez são menores que o do grupo de vacas onde mais de 50% de vacas estão ciclando. Brown et al. (1988) encontraram índices de 30% e 48% na taxa de concepção de novilhas acíclicas e cíclicas, respectivamente, tratadas com N e VE.

Trabalhos realizados com IA em tempo fixo, de 48 a 56 hs, tiveram resultados aceitáveis, no entanto, os resultados das provas de campo tem sido variáveis (Odde, 1990; Kerr et al., 1991). Recentemente, observou-se que esta variabilidade pode estar influenciada pelo intervalo entre a remoção do implante e o momento da ovulação. Mapletoft et al. (1999b) compararam a eficácia do  $17\beta$ -E ( 5 mg ) associado a progesterona ( 100 mg ) com o VE ( 5 mg ) associado a N ( 3 mg ) na sincronização da emergência da onda folicular em vacas implantadas com N. Concluíram que a associação de N+VE é mais eficaz na sincronização do estro e ovulação, entretanto o  $17\beta$ -E associado a progesterona mostraram maior sincronia na emergência da onda folicular.

Lago et al. (2000) obtiveram 83% de taxa de concepção em novilhas quando associaram dispositivos intravaginais de progesterona, BE (5 mg) e  $\text{PGF}_{2\alpha}$  com inseminação em tempo fixo de 48 a 50 hs após a remoção do dispositivo.

Alguns dispositivos intravaginais liberadores de progesterona são acompanhados de uma cápsula de gelatina contendo BE (10 mg), que é inserida junto com o dispositivo intravaginal, com o objetivo de induzir a luteólise e assim recrutar uma nova onda folicular (Macmillan & Peterson, 1993). Bó et al. (1994) realizaram um experimento com o objetivo de avaliar se a sincronização do desenvolvimento folicular com  $17\beta\text{-E}$ , em novilhas tratadas com um dispositivo intravaginal (1,9 g de progesterona), reduziria a variação do momento da ovulação. Foram formados 3 grupos: o grupo controle recebeu duas doses de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  com intervalo de 11 dias. O grupo 2 recebeu 100 mg de progesterona e 5 mg de  $17\beta\text{-E}$  no momento da colocação do dispositivo. O grupo 3 recebeu somente a progesterona no momento da colocação do dispositivo intravaginal. Observaram que o tratamento 2 (dispositivo + progesterona +  $17\beta\text{-E}$ ) resultou em um começo síncrono de uma nova onda folicular 3 a 5 dias após e todas as novilhas tiveram um folículo dominante no momento de remoção do dispositivo. Estas características foram mais variáveis nos demais grupos. Além disso, 75% das novilhas tratadas com o protocolo 2 (dispositivo + progesterona +  $17\beta\text{-E}$ ) ovularam 72 a 84 hs após o tratamento. Somente 40% das tratadas com  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e 33% das tratadas com o dispositivo e progesterona ovularam no mesmo período.

#### **2.2.4 Progestágenos, estrógenos e eCG**

O eCG foi descoberto por Cole e Heart em 1930, quando aplicaram sangue de éguas prenhes em ratas sexualmente imaturas provocando o aparecimento da puberdade. Trata-se de uma glicoproteína com subunidades  $\alpha$  e  $\beta$ , similares ao LH e FSH. Contém carboidratos, especialmente ácido siálico, que parece contribuir para a longa meia-vida que apresenta. Esta gonadotrofina é secretada pelos cálices endometriais, entre o 40º e o 130º dias de gestação, e possui ações biológicas de FSH e LH, sendo dominantes as ações de FSH. A secreção de eCG estimula o

desenvolvimento dos folículos ovarianos e foi uma das primeiras gonadotrofinas disponíveis comercialmente, utilizada, principalmente, para induzir superovulações (Hafez, 1995).

Segundo Hafez (1995), uma resposta melhorada à combinação de progestágenos e estrógenos ocorre quando o eCG (400 a 800 UI) é administrado no último dia do tratamento com progestágenos. O tratamento com eCG (400 UI) no momento da retirada dos implantes auriculares (N) provoca um incremento no grau de sincronização, com redução significativa da variação do tempo para a ovulação e para o pico de LH (Cavaliere et al., 1997).

Gordon et al. (1962) utilizando doses de 800, 1.000, 1.200, 1.600 e 2.000 UI de eCG obtiveram, em média, 1.43, 1.77, 2.50, 2.71 e 3.97 ovulações, de acordo com a dose utilizada, respectivamente. Afirmam existir uma relação dose/efeito quando da utilização de eCG. Mc Millan et al. (1993) apontam porém, inconvenientes na utilização de hormonioterapia como eCG e FSH, com efeito estimulante do crescimento folicular, dada a dificuldade de estabelecimento de uma relação dose/efeito, podendo, deste modo, serem obtidas gestações múltiplas. Bó (2000) afirma que o tratamento com 700 UI de eCG após N+VE trata-se de uma dose muito elevada, havendo a possibilidade de obtenção de gestações múltiplas.

Mulvehill & Sreenan (1977) utilizaram 750 UI de eCG após o tratamento com progestágenos e estrógenos em vacas multíparas e lactantes. A IA foi realizada em tempo fixo de 48 a 72 hs após os tratamentos. Observaram que o eCG aumentou significativamente os índices de prenhez, quando comparado aos animais que não receberam o hormônio (73 % vs 48%). Por outro lado, obtiveram 15 % de nascimentos gemelares. Concluíram que a alta incidência de nascimentos múltiplos em vacas tratadas aos 60 dias pós-parto indica que as condições endócrinas destes animais era similar às de vacas cíclicas e que o eCG administrado neste momento resulta em um acréscimo na taxa de ovulação, por aumentar as concentrações de FSH endógeno.

Kastelic et al. (1997) utilizaram 500 UI de eCG, simultaneamente à remoção de implante auricular, em vacas lactantes. Obtiveram maiores taxas de estro nos animais que receberam eCG, quando comparado aos animais que receberam somente o tratamento com N+VE (75% vs 67,8%). Entretanto, as taxas de concepção e prenhez não tiveram diferença significativa entre os grupos que receberam ou não eCG. Concluíram que a aplicação de eCG, no momento da remoção do implante, não melhora o desempenho reprodutivo em vacas de corte ciclando e que, talvez, o uso de eCG no momento da remoção dos implantes seja mais benéfico caso uma grande percentagem de vacas estejam em anestro, quando do início do tratamento. Da mesma forma, Barufi et al. (1999), concluíram que a utilização de 500 UI de eCG, no momento da retirada de implantes ou dispositivos vaginais, parece ser desnecessária, pelo menos em animais cíclicos.

Kerr et al. (1991) realizaram um experimento utilizando 169 novilhas cruza Brahman de 12 a 15 meses. Formaram 3 grupos, onde o grupo controle recebeu duas doses de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  com intervalo de 12 dias e foi inseminado 72 hs após o último tratamento. Os outros dois grupos receberam dispositivo intravaginal de progesterona (1,9 g) ou implante auricular de N (6 mg) por 10 dias, 400 UI de eCG e  $\text{PGF}_{2\alpha}$  no momento da retirada do implante, sendo inseminados 50 hs após. Os índices de prenhez foram de 18,8% (16/85), 48,8% (20/41) e 53,5% (23/43) para os grupos controle, dispositivo intravaginal e implante auricular, respectivamente.

Kastelic et al. (1999), utilizando novilhas, compararam o tratamento com N+VE associado a 500 UI de eCG (grupo 1) com o protocolo de 2 aplicações de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  com 11 dias de intervalo (grupo 2). O número de animais em estro, taxa de ovulação e prenhez foi maior nos animais do grupo 1. O intervalo entre a remoção do implante ou 2º tratamento com  $\text{PGF}_{2\alpha}$  e o estro foi de 48,0 (+/- 4,4) e 61,3 (+/- 7) hs e a ovulação foi de 70,4 (+/- 4,4) e 93,2 (+/- 7,5) hs, respectivamente.

Duarte et al. (2000) concluíram que a sincronização do estro de receptoras de embriões com N+VE associado com aplicação injetável de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  (dia 7) e 500 UI de

eCG no momento da retirada do implante (dia 9), apresenta maior número de animais em estro, maior número de animais aptos a receber embriões (presença de um bom corpo lúteo no ovário) e melhores taxas de prenhez, quando comparado ao tratamento convencional de 2 aplicações de  $\text{PGF}_{2\alpha}$  com intervalo de 11 dias. Rigolon et al. (1999) verificaram acréscimo no número de CL (1,0 vs 2,1) e na taxa de prenhez (56,0 vs 68,9%) de novilhas receptoras de embriões que receberam 330 UI de eCG, após tratamento com N+VE, quando comparado ao grupo de animais que não foram tratados com eCG.

Caccia et al. (1999) pesquisaram o efeito do pré-tratamento com 300 UI eCG na resposta superovulatória de vacas de corte tratadas com dispositivo intravaginal liberador de progesterona (1,9 g) e solução injetável de estrógeno e progesterona. Não verificaram diferença na resposta superovulatória entre os grupos, entretanto, observaram uma maior percentagem de oócitos fertilizados nos animais que receberam eCG no dia anterior ao início do tratamento superovulatório, sugerindo que o eCG possa ter um efeito benéfico sobre o índice de fertilização. Em outro experimento, Caccia et al. (2000) avaliaram uma maior dose de eCG como pré-tratamento superovulatório. Utilizaram 500 UI de eCG 2 dias após o tratamento com o dispositivo intravaginal e solução injetável de estrógeno e progesterona. Verificaram aumento no número de embriões coletados sugerindo que este tratamento possa ser útil quando as doadoras encontram-se em condições fisiológicas e/ou nutricionais que afetam o recrutamento folicular e, conseqüentemente, a resposta superovulatória.

Duarte et al. (1999) obtiveram taxas de prenhez de 50% em novilhas e 63% em vacas com 120 dias pós-parto, ambas em aciclia. Os animais foram tratados com N+VE, receberam  $\text{PGF}_{2\alpha}$  no dia 7 e 500 UI de eCG no momento da retirada do implante (dia 9). Segundo Cavalieri et al. (1997), o intervalo entre a remoção do implante e a ovulação é maior e mais variável em fêmeas tratadas com 10 dias de implante auricular, eCG e  $\text{PGF}_{2\alpha}$  que com 10 dias de implante e eCG somente (62 a 139 hs e 61 a 83 hs, respectivamente).

Bó et al. (2000b) compararam as taxas de prenhez em vacas Braford, inseminadas em tempo fixo, tratadas com dispositivos intravaginais de progesterona e BE no momento da inserção, combinados ou com 300 UI de eCG, no momento da retirada do dispositivo, ou com uma segunda dose de BE (2mg) 24 hs após. Verificaram que as taxas de prenhez no grupo que recebeu eCG foram menores que nos grupos que receberam a segunda aplicação de BE. Gatti et al. (1999), por outro lado, afirmam que a adição BE 24 hs após a remoção do implante não melhora os índices de prenhez em vacas com cria ao pé tratadas com progestágenos e eCG e inseminadas em tempo fixo.

Bussi (1999) utilizaram 400 UI de eCG, após tratamento de sincronização de estro com N+VE, e obtiveram índices de prenhez de 51,85% em vacas com 50 dias pós-parto, ECC 3 (escala de 1 a 5), desmamadas por 48 hs e inseminadas em tempo fixo de 48 a 54 hs. Fernández & Larocca (1999) após combinar desmame temporário, implantes auriculares e 500 UI de eCG em 92 vacas Hereford e cruza Zebu, ECC 2,5- 3 (escala de 1 a 5) e 50 a 70 dias pós-parto (em anestro), obtiveram 60,8% de prenhez. No grupo controle, em que somente o desmame temporário foi realizado, o índice de prenhez foi de 6,9%.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Experimento 1**

#### **3.1.1 Local e Data**

O experimento foi conduzido na fazenda Ressaca, pertencente ao grupo Grendene S/A, localizada no município de Cáceres/MT, no período de janeiro a abril de 2000.

#### **3.1.2 Animais**

Foram utilizadas 133 vacas da raça sintética Braford ( $\frac{1}{2}$  Nelore x  $\frac{1}{2}$  Hereford), múltíparas, lactantes, com idades entre 4 e 6 anos. O escore de condição corporal (ECC) médio das fêmeas era 3, em uma escala de 1-5 descrita por Wildman et al. (1982), e todos os animais encontravam-se entre 150 a 155 dias pós-parto.

As vacas foram submetidas a aplicação de implante auricular subcutâneo<sup>1</sup> contendo 3 mg de N e de uma solução injetável (im) de 3 mg de N e 5 mg de VE, no momento da colocação do implante (Dia 0). A colocação do implante foi realizada com aplicador específico, introduzido subcutaneamente na face externa da orelha do animal. A implantação foi realizada no centro da orelha a fim de evitar-se os vasos sangüíneos e a base, visto que, neste local a pele não está fixada na cartilagem, podendo assim, o implante deslocar-se. Após 10 dias de permanência, realizou-se uma incisão da pele para a retirada do produto.

---

<sup>1</sup> Crestar®-Akzo Nobel- Intervet

### 3.1.3 Delineamento Experimental

O delineamento foi completamente casualizado. No momento da retirada do implante (Dia 10) os animais foram separados, aleatoriamente, em 4 grupos distintos e realizou-se aplicação injetável (im) de eCG<sup>2</sup> em 3 grupos, conforme doses estabelecidas a cada um (Tabela 1). O grupo controle não recebeu tratamento com eCG.

TABELA 1 - Grupos experimentais (Experimento 1) e doses de eCG aplicadas na retirada do implante.

Grupo	N	Dia 0	Dia 10
I	33	N+VE	-
II	34	N+VE	300 UI eCG
III	33	N+VE	500 UI eCG
IV	33	N+VE	700 UI eCG

As vacas foram identificadas mediante tatuagem e 4 diferentes cores de tintas marcadoras.

### 3.1.4 IA

As inseminações artificiais (IAs) foram realizadas em tempo fixo de 52 a 54 hs após a retirada do implante. Foi utilizado sêmen congelado, de um único touro da raça Polled Hereford, com qualidade comprovada através de avaliação prévia.

Após 15 dias da realização da IA, as vacas permaneceram com touros, de fertilidade comprovada mediante exame andrológico, durante 45 dias, com a finalidade de serem submetidas a monta natural caso retornassem ao estro.

### 3.1.5 Diagnóstico de Gestação

Aos 40 e 100 dias após a IA foi realizado o diagnóstico de gestação, mediante palpação retal, para identificação dos animais que conceberam por IA ou serviço natural respectivamente.

<sup>2</sup> Folligon®-Akzo Nobel- Intervet

## **3.2 Experimento 2**

### **3.2.1 Local e Data**

O experimento foi realizado na fazenda Ijuí-Mirim, localizada no município de São Luiz Gonzaga, noroeste do estado do RS. O estudo compreendeu o período de abril de 2000 a fevereiro de 2001.

### **3.2.2 Animais**

Foram utilizadas 56 vacas, sendo 27 cruza Nelore/Charolês e 29 da raça sintética Braford ( $\frac{3}{8}$  Nelore x  $\frac{5}{8}$  Hereford), múltiparas, não lactantes e com idades variando entre 4 e 7 anos. As fêmeas foram submetidas a exame ginecológico prévio a fim de verificar-se as condições reprodutivas. Todos os animais selecionados apresentavam atividade ovariana evidenciada pela presença de folículo ou corpo lúteo, bem como tônus uterino, à palpação retal. A condição corporal média das fêmeas era de 3,5 em uma escala de 1-5.

Com a finalidade de sincronizar os ciclos estrais, todos os animais foram submetidos a colocação de um implante subcutâneo<sup>3</sup> (dia 0) contendo 3 mg de norgestomet (N) e aplicação de solução injetável de 3 mg de norgestomet (N) e 5 mg de valerato de estradiol (VE).

### **3.2.3 Delineamento Experimental**

O delineamento foi completamente casualizado, onde a unidade experimental foi a fêmea, sendo que no momento da retirada do implante (dia 10) foram divididas, de forma aleatória, em três grupos distintos e receberam, neste momento, aplicação injetável (im) de eCG<sup>4</sup> nas doses conforme Tabela 2:

---

<sup>3</sup> Crestar®-Akzo Nobel- Intervet

<sup>4</sup> Folligon®-Akzo Nobel- Intervet

TABELA 2 - Grupos experimentais (Experimento 2) e doses de eCG aplicadas na retirada do implante.

Grupo	N	Dia 0	Dia 10
I	18	N+VE	500 UI eCG
II	19	N+VE	1.000 UI eCG
III	19	N+VE	1.200 UI eCG

#### **3.2.4 Diagnóstico de Estro e IA**

A partir do dia seguinte à retirada do implante e aplicação de eCG, os animais foram observados para identificação dos sinais de estro, duas vezes ao dia, no início da manhã e ao final da tarde, durante 1 h cada turno.

As IAs foram realizadas 12 hs após a identificação do estro. Foi utilizado sêmen congelado, de um único touro da raça Polled Hereford, de qualidade comprovada através de avaliação prévia. Nos animais em que o estro não foi identificado, realizou-se IA em tempo fixo de 52 a 54 hs após a retirada do implante.

#### **3.2.5 Diagnóstico de Gestação**

O diagnóstico de gestação foi realizado, mediante palpação retal, aos 45 dias após a IA.

#### **3.2.6 Controle de Parições**

Os animais diagnosticados prenhes foram acompanhados durante o período de parição com o propósito de avaliar o número de produtos nascidos e auxiliar os partos caso fosse necessário.

### **3.3 Análise Estatística**

Os dados obtidos nos diferentes tratamentos dos experimentos 1 e 2 foram analisados pelo teste do Qui-Quadrado ou Regressão Logística a um nível de significância de 0,05.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Experimento 1

As taxas de prenhez obtidas em cada grupo foram avaliadas em relação a dose de eCG utilizada. Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que não houve diferença significativa ( $p=0,539$ ), indicando ausência de relação entre prenhez e dose de eCG administrada a cada grupo.

TABELA 3 - Taxas de prenhez nos diferentes grupos experimentais após a IA.

Dose	N	Prenhez	
		n	%
Controle	33	11	33,3
300 UI	34	17	50,0
500 UI	33	13	39,4
700 UI	33	15	45,5
Total	133	56	42,1

( $p=0,539$ )

Na Tabela 4, estão ilustradas as taxas de prenhez da MN e a prenhez total de cada grupo experimental. A análise estatística não demonstrou diferença ( $p=0,164$ ) entre as doses utilizadas e o número de animais prenhes pela MN. A prenhez total também foi semelhante entre os grupos ( $p=0,411$ ).

TABELA 4 - Taxas de prenhez nos diferentes grupos experimentais após a estação reprodutiva.

Dose	n	Prenhez		Total
		IA	MN	
Controle	33	11 (33,3%)	15 (45,5%)	26 (78,8%)
300 UI	34	17 (50,0%)	10 (29,4%)	27 (79,4%)
500 UI	33	13 (39,4%)	17 (51,5%)	30 (90,9%)
700 UI	33	15 (45,5%)	10 (30,3%)	25 (75,8%)
TOTAL	133	56 (42,1%)	52 (39,1%)	108 (81,2%)

(p=0,411)

Não foram observados partos gemelares ou distocia nos animais deste experimento.

#### 4.2 Experimento 2

Neste experimento, primeiramente os animais foram avaliados quanto a presença dos sinais de estro em relação a dosagem de eCG utilizada. Os resultados apresentados na Tabela 5 mostram que não houve diferença significativa (p=0,866), indicando ausência de relação entre estro e dose de eCG administrada a cada grupo.

TABELA 5 - Taxas dos animais em estro nos diferentes grupos experimentais.

Dose	N	Estro	
		n	%
500 UI	18	16	88,9
1000 UI	19	17	89,5
1200 UI	19	16	84,2
Total	56	49	87,5

(p=0,866)

Os sinais de estro presentes em 87,5% dos animais tratados foram diagnosticados no intervalo de 36 a 48 hs após a retirada do implante e tratamento com eCG.

Em seguida, as taxas de prenhez obtidas em cada grupo foram avaliadas em relação a dose de eCG utilizada. Os resultados apresentados na Tabela 6 mostram que não houve diferença significativa ( $p=0,25$ ), indicando ausência de relação entre prenhez e dose de eCG estabelecida a cada grupo.

TABELA 6 - Taxas de prenhez nos diferentes grupos experimentais.

Dose	N	Prenhez	
		N	%
500 UI	18	8	44,4
1000 UI	19	7	36,8
1200 UI	19	12	63,2
Total	56	27	48,2

( $p=0,25$ )

A Tabela 7 mostra as taxas de prenhez obtidos nas fêmeas que foram inseminadas 12 hs após apresentarem sinais de estro e dos animais que não demonstraram estro e foram inseminadas 52-54 horas após a retirada do implante e tratamento com eCG.

TABELA 7 – Taxas de prenhez nos animais que apresentaram ou não sinais de estro.

Dose	Estro			Sem Sinais de Estro		
	N	Prenhez		N	Prenhez	
		n	%		n	%
500 UI	16	7	43,7	2	1	50,0
1000 UI	17	6	35,3	2	1	50,0
1200 UI	16	11	68,7	3	1	33,3
Total	49	24	49,0	7	3	42,9

( $p=0,666$ )

Não há diferença ( $p=0,666$ ) entre as taxas de prenhez dos animais que foram inseminados 12 hs após a detecção do estro ou em tempo fixo de 52 a 54 hs.

Não foram observados partos gemelares, tampouco distocia, nas vacas dos diferentes grupos experimentais.

## 5 DISCUSSÃO

### Experimento 1

Este experimento não evidenciou relação ( $p=0,539$ ) entre a dose do tratamento hormonal com eCG e os índices de prenhez obtidos. As diferenças nas taxas de prenhez entre os grupos tratados e o controle não foram significativas estatisticamente (Tabela 3). Estes achados não concordam com Mulvehill & Sreenan (1977), que reportam incremento na fertilidade de vacas multíparas lactantes quando associam 750 UI de eCG ao tratamento com progestágenos e estrógenos. Do mesmo modo, Madureira et al. (2001) *apud* Baruselli et al. (2001) obtiveram resultados de taxas de prenhez significativamente maiores quando inseminaram vacas em tempo fixo de 54 hs após a retirada do implante de N e associaram a este tratamento 500 UI de eCG.

O observado no presente experimento, concorda com os achados de Kastelic et al. (1997) que, ao utilizarem 500 UI de eCG simultâneos a retirada do implante auricular, não encontraram diferenças significativas nas taxas de concepção e prenhez. Atribuem estes resultados ao fato de observar-se efeito benéfico da associação de eCG apenas em rebanhos com grande proporção de vacas acíclicas. Provavelmente, esta não era a situação das vacas no presente trabalho, visto tratarem-se de vacas multíparas com boa condição corporal e com grande intervalo pós-parto. Bó et al. (2000b) também não verificaram incremento nas taxas de prenhez após o tratamento com 300 UI de eCG de vacas que se encontravam entre 60 e 90 dias pós-parto, condição corporal entre 2,5 a 3,5 e inseminadas em tempo fixo de 52-56 hs após a retirada do implante.

No presente experimento, as fêmeas encontravam-se em condição corporal 3 (escala de 1 a 5) e com 150 a 155 dias pós-parto, o que representa um intervalo parto-tratamento maior em relação aos animais utilizados por Bó et al. (2000b). Este fator, porém, ao contrário do esperado, não traduziu-se em melhores índices de gestação neste estudo, quando comparados aos dos autores supracitados.

Segundo Humbolt et al. (1996), a proporção de animais ciclando no momento do tratamento influi enormemente sobre a percentagem de prenhez de animais tratados com eCG após bloqueios com progestágenos. Os resultados a serem esperados são em torno de 40% de gestações para vacas acíclicas, podendo chegar a 60% para vacas tratadas com ciclos estrais regulares.

Bó et al. (2001) realizaram outro experimento para avaliar o efeito do tratamento com eCG em um protocolo de sincronização com progestágenos. Os animais apresentavam ECC de 2 a 2,5 (escala de 1-5), receberam 300 UI de eCG e foram inseminados 54 hs após a remoção do progestágeno. No grupo tratado com eCG obteve-se 71,4% de prenhez, enquanto que o grupo que não recebeu a gonadotrofina obteve 46,7% de prenhez. No ano seguinte, repetiram o experimento com um grupo de 67 vacas Red Angus, com ECC de 2 a 3. Mesmo os animais apresentando melhor ECC, quando comparado aos utilizados no experimento anterior, não obteve-se diferenças nos índices de gestação entre os grupos que receberam ou não o eCG. Estes resultados assemelham-se aos resultados do presente trabalho.

Os resultados contraditórios, com relação aos índices de gestação obtidos nos trabalhos, podem estar associados, segundo Fávero et al. (1988), a eventuais disfunções luteais ou mesmo produções insuficientes de LH verificadas após a remoção do implante (Hixon et al., 1981). A condição corporal dos animais (Dunn & Kaltembach, 1980), o dia do ciclo estral em que o tratamento é iniciado (Odde, 1990) e o intervalo entre a remoção do implante e a ovulação (Mapletoft et al., 1999a) também influenciam os resultados de fertilidade. Cavalieri et al. (1997) atribuem

efeito negativo a elevadas concentrações de estradiol encontradas em animais tratados com N e VE. Associaram as altas concentrações de estradiol, antes da ovulação, com baixos índices de concepção em bovinos.

Ao final da estação reprodutiva, incluindo o período de monta natural de 45 dias, observou-se um índice médio de 81,2% de animais gestantes (Tabela 4), sem diferença entre os grupos experimentais. Este percentual pode ser considerado excelente para vacas com cria ao pé. O incremento pela MN em relação ao índice observado após a IA pode, provavelmente, ser atribuído a uma indução retardada à ciclicidade em vacas que não responderam ao tratamento em um primeiro momento. Estes resultados demandam porém, validação por outros experimentos.

## **Experimento 2**

Os achados deste protocolo (Tabela 5) não evidenciaram relação entre o aparecimento dos sintomas de estro e a dose utilizada de eCG ( $p=0,866$ ). Kastelic et al. (1997) trabalhando com vacas lactantes obtiveram maiores taxas de estro nos animais tratados com eCG em comparação àqueles que receberam apenas tratamentos com N e VE. A diferença no “status” reprodutivo dos animais do presente experimento (vacas não-lactantes), permite uma associação deste com a disparidade de resultados aqui obtidos em relação aos do autor supracitado. A lactação, entre outros efeitos negativos, pode interferir na demonstração de estro, o que através da administração de eCG, com efeito sobre o desenvolvimento folicular, pode ser minimizados. No caso dos animais deste experimento, não seriam observados efeitos adicionais sobre a expressão do estro.

Estudos de Odde et al. (1990) revelam que mais de 90% dos animais tratados com N e VE apresentam sinais de estro, porém com resultados de concepção que variam de 33 a 68%. Os resultados do presente experimento estão de acordo com os citados pelo autor, uma vez que foram observados 87,5% de animais em estro (Tabela 5) com 48,2% de animais gestantes (Tabela 6).

Observou-se também que os animais que não demonstraram sinais de estro e que foram inseminados em tempo fixo de 52 a 54 hs após a retirada do implante e o tratamento com eCG, apresentaram taxas de prenhez semelhantes àqueles inseminados 12 hs após a detecção do estro (Tabela 7). Esta semelhança nas taxas de prenhez obtidos, após a IA em tempo fixo ou após estros observados, reforçam a hipótese da viabilidade da IA em tempo fixo neste tipo de tratamento hormonal.

Da mesma forma que no Experimento 1, não houve relação ( $p=0,25$ ) entre as taxas de prenhez e a dose de eCG utilizada (Tabela 6). De acordo com Humbolt et al. (1996), encontra-se maior percentagem de prenhez, quando agrega-se eCG aos tratamentos de sincronização, em vacas em anestro pós-parto e com condição corporal comprometida. As fêmeas utilizadas no presente estudo não apresentavam aciclia e, tampouco baixa condição corporal no início do tratamento. Deste modo, a falta de incremento nos resultados de gestação pode ser atribuída, como referem Kastelic et al. *apud* Bó et al. (2001), ao fato de não haver benefício em utilizar eCG em rebanhos de vacas pós-parto com alta percentagem de ciclicidade e boa condição corporal.

Bó et al. (2001) compararam a percentagem de prenhez de vacas Braford ( $\frac{3}{8}$  Brahman x  $\frac{5}{8}$  Hereford), não lactantes, com ECC > 2,5 (escala de 1-5), inseminadas em tempo fixo de 50-55 hs, tratadas com implante de progesterona combinado ou com aplicação de eCG (300 UI) no momento da retirada do implante ou com a aplicação de BE 24 hs após. Os animais do grupo tratado com eCG resultaram em uma percentagem de prenhez inferior ( $p=0,08$ ), quando comparado ao grupo tratado com BE (44,8% vs 60,7% respectivamente). Este fato, segundo os autores, explica-se devido a boa condição corporal das fêmeas, não havendo portanto, necessidade de um estímulo para o crescimento folicular. Entretanto, como o BE sincroniza a ovulação, atribuem a este efeito a maior percentagem de prenhez nas fêmeas assim tratadas.

Provavelmente a boa condição corporal das vacas do presente estudo, assim como a sua ciclicidade evidenciada pelo exame retal, podem ter mascarado um efeito positivo de altas doses de eCG observado quando são tratadas vacas acíclicas.

Mesmo prevendo uma eventual possibilidade de desencadear gestações gemelares, testou-se as doses de 1.000 e 1.200 UI de eCG com o propósito de verificar uma melhora nos índices de concepção obtidos com progestágenos. Segundo Mulvehill & Sreenan (1977), McMillan et al. (1993) e Bó et al. (2000a), doses de eCG maiores que 500 UI, utilizadas após tratamentos com progestágenos, podem induzir ao aparecimento de gestações gemelares. Os resultados deste experimento porém contrariam estas observações, uma vez que não foi observado nenhum parto gemelar.

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados destes experimentos permitem concluir que:

- O uso de eCG em diferentes dosagens, ao final do tratamento com progestágenos e estrógenos, não interferiu nos resultados de prenhez em vacas não-lactantes ou lactantes, inseminadas 12 hs após a detecção do estro ou em tempo fixo.
- A dose crescente de eCG não teve efeito sobre o aparecimento de estro em vacas não-lactantes previamente tratadas com progestágenos e estrógenos.
- A inseminação de vacas não-lactantes realizada em tempo fixo, 52-54 hs após a retirada do implante, apresentou resultados semelhantes aos observados nas inseminações 12 hs após a identificação do estro.
- As doses de 300, 500, 700, 1.000 e 1.200 UI de eCG não induziram partos gemelares nos animais utilizados no presente estudo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVAREZ, R.H.; ARCARO, J.R.P.; MASCHIO, W. Inseminação artificial em tempo fixo em rebanho holandês. Ineficiência do tratamento “OvSynch”?. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.23, n.3, p.326-328, 1999.
2. BARROS, C.M.; FIGUEREDO, R. A.; PINHEIRO, O.L. Estro, ovulação e dinâmica folicular em zebuínos. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.19, p.9-22, 1995.
3. BARROS, C.M.; FERNANDES, P.; NOGUEIRA, M.F.G. Controle farmacológico do ciclo estral e superovulação em zebuínos de corte. In: Simpósio sobre o Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo. **Anais.** p. 158-189, 2000a.
4. BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, R.A.; TEIXEIRA A.B.; TRINCA, L.A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF2 $\alpha$  and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.53, p.1121-1134, 2000b.
5. BARUFI, F.B.; MADUREIRA, E.H.; MARQUES, A.; CARVALHO, N.A.; CELEGHINI, E.C.; BARUSELLI, P.S.; RODRIGUES, P.H.M. Avaliação do uso de Crestar ou CIDR-B + benzoato de estradiol, seguidos ou não pela aplicação de gonadotrofina coriônica equina (eCG), no desempenho reprodutivo de vacas de corte com bezerro ao pé. **Rev. Bras. Rep. Animal**, v.23, n.3, p.332-333, 1999.

6. BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.H.; MARQUES, M.O. Programas de I.A. a tiempo fijo en *bos indicus*. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÒN ANIMAL, 4, Córdoba. **Anais**. P.95-116, 2001.
7. BÓ, G.A. Sincronizacion de celos para programas de inseminacion artificial y transferencia de embriones bovinos. In: Simpósio sobre o Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo. **Anais**. p. 35-60, 2000.
8. BÓ, G.A.; ADAMNS, G.P.; PIERSON, R.A.; CACCIA, M.; TRIBULO, H.; MAPLETOFT R.J. Follicular wave dynamics after estradiol 17 $\beta$  treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**; v. 41, p. 1555-1569, 1994.
9. BO, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Exogenous control of follicular development in cattle. **Theriogenology**; v. 43, p. 31-40, 1995a.
10. 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**; v.39, p.193-204, 1995b.
11. BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J. Dinámica folicular ovárica en el bovino. In: Simpósio sobre o Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes. São Paulo. **Anais**. p. 12-34, 2000a.
12. BÓ, G.A.; Tegli, J.C.; CUTAIA, L. MORENO, D.; ALISIO, L.; TRIBULO, R. Fixed-time artificial insemination in braford cows treated with progesterone releasing devices and eCG or estradiol benzoate. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.28, n.1, p.209, 2000b.

13. BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; BROGLIATTI, G.M.; MEDINA, M.; TRIBULO, R.; TRÍBULO, H. Programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado bovino utilizando progestagenos y estradiol. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 4, Córdoba. **Anais**. p.117-136, 2001.
14. BODENSTEINER, K.L. Synchronization of emergence of follicular waves in cattle. **Theriogenology**, v.45, p. 1115-1128, 1996.
15. BROWN, L.N.; ODDE, K.G.; KING, M. E.; LEFEVER, D.G.; NEUBAUER, C.J. Comparison of MGA-PGF2 $\alpha$  to Sincro-Mate B for estrous synchronization in beef heifers. **Theriogenology**, v. 30, p.1, 1988.
16. BUSSI, P.J. Inseminación artificial a tiempo fijo, tasa de preñez en vaquillonas y vacas sincronizadas con SyncroMate-B y SyncroMate-B con PGF2 $\alpha$  y PMSG. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 3., Córdoba. **Anais**. P. 200, 1999.
17. CACCIA M.; BO G.A., Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. **Theriogenology**; v.49, p. 341, 1998.
18. CACCIA M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; BÓ G.A. Effect of pretreatment with eCG on superovulatory response in beef cattle treated with CIDR-B, estrogen and progesterone. **Theriogenology**, v.51, p.403, 1999.
19. CACCIA M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; BÓ G.A. Effect of eCG pretreatment on superovulatory response in CIDR-B treated beef cattle. **Theriogenology**, v.53, p.495, 2000.

- 20.CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; ENTWISTLE, K.W.; FITZPATRICK, L.A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in Bos indicus cows. **Theriogenology**, v.47, p.801-814, 1997.
- 21.COLAZO, M.; ILLUMINATI, H.; SCHMIDT, E.; BARTOLOMÉ, J.; BÓ, G.A. Control del ciclo estral com un agonista de GnRH y PGF en vacas de carne com cria al pie. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÒN ANIMAL, 3., Córdoba. **Anais**. p. 190, 1999.
- 22.DICK, A. Control del ciclo estral en bovinos lecheros. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÒN ANIMAL, 3., 1999, Córdoba. **Anais**. p. 95-107, 1999.
- 23.DUARTE, M.V.; CAVALHEIRO, E.P.; VALENTIM, R. Analysis of two methods for estrus induction and synchronization in Nelore cows: progestogen-estrogen-prostaglandin and progestogen-estrogen-prostaglandin-PMSG systems. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.27, n.1, p.220, 1999.
- 24.DUARTE, M.V.; CAVALHEIRO, E.P.; VALENTIM, R. Two methods of estrus synchronization in recipients. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.28, n.1, p.233, 2000.
- 25.DUNN, T.G., KALTEMBACH,C.C. Nutrition and the postpartum interval of the ewe, sow and cow. **J. Anim. Sci.**, v.51, p.,29, 1980.
- 26.FAVERO, R.J.; FAULKNER, D.B.; KESLER, D.J. Estrous synchronization in beef females with SyncroMate-B: Efficacy and factors that restrict optimal pregnancy rates. **Theriogenology**, v.29, p.245, 1988.

- 27.FERNÁNDEZ, A.T.; LAROCCA, C. El uso de norgestomet para inducción y sincronización de celos en vacas de cría. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 3., Córdoba. **Anais**. p. 192, 1999.
- 28.FOOTE, R.H. Estrus detection and estrus detection aids. **J. Dairy Sci.**, v.58, p.248-256, 1975.
- 29.GATTI, G.; MARTÍNEZ, M.; MAPLETOFT R.; BÓ, G. Efecto del momento de aplicación de gonadotrofina corionica equina combinada o no con benzoato de estradiol en programas de inseminación artificial a tiempo fijo utilizando implantes de progestageno. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 3., 1999, Córdoba: **Anais**. p. 194, 1999.
- 30.GINTER, O.J.; KASTELIC, J.P.; KNOFF, L. Composition and characteristics of follicular waves during the bovine estrous cycle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.20, p.187-200, 1989.
- 31.GINTER, 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.1187-1194, 1996.
- 32.GORDON, I.; WILLIAMS, G.L.; EDWARDS, J. The use of serum gonadotropins (PMS) in the induction of twin pregnancy in the cow. **J. Agricultural Science**, v.59, p.143-198, 1962.
- 33.GRUNERT, E.; GREGORY, R.M. Anatomia e fisiologia do aparelho genital feminino. In: GRUNERT, E.; GREGORY, R.M. **Diagnóstico e Terapêutica da Infertilidade na Vaca**. Sulina, Porto Alegre-RS, Brasil, cap.1, p.15-32, 1984.

34. GUIBAULT, L.A.; VILLENEUVE, P.; LAVERDIERE, G.; PROULX, J.; DUFOUR, J.J. Estrus synchronization in beef cattle using a potent GnRH (buserelin) and cloprostenol. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.419, 1991.
35. HAFEZ, E.S.E. Técnicas para melhorar a eficiência reprodutiva. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. Manole, São Paulo-SP, Brasil, 6 ed., cap.5, p. 411-535, 1995.
36. HANSEL, W., CONVEY, E. M. Physiology of the estrus cycle. **J. Anim. Sci.**, v.57. p.404-424, 1983.
37. HIXON, D.L.; KESLER, D.J.; TROXEL, T.R.; VINCENT, D.L.; WISEMAN, B.S. Reproductive hormone secretions and first service conception rate subsequent to ovulation control with SyncroMate-B. **Theriogenology**, v.16, p.219, 1981.
38. HUMBOLT, P.; GRIMARD, B.; MIALOT, J.P. Sources of variation of post-partum cyclicity, ovulation and pregnancy rates in suckled beef cows treated with progestagen and PMSG. In: Proc Soc Theriogenology Meeting, Kansas City, p. 36-45, 1996.
39. JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Ciclos Reprodutivos. In: HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. Manole, São Paulo-SP, Brasil, 6 ed., cap.4, p. 319-407, 1995.
40. KASTELIC, J.P. Understanding ovarian follicular development in cattle. **Food-Animal Practice**; Veterinary Medicine, p.64-71, 1994.
41. KASTELIC, J.P.; KNOPF, L.; GHINTHER, O. J. Effect of day of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers. **Anim. Reprod. Sci.**, v.23, p.169-180, 1990.

- 42.KASTELIC, J.P.; OLSON, W.O.; MARTINEZ, M.; MAPLETOFT, R.J. Sincronização do estro em bovinos Hereford-Angus com Crestar. **Rev. Bras. Rep. Animal**, v.21, n.2, p.101-103, 1997.
- 43.KASTELIC J.P.; OLSON W.O.; MARTINEZ M.; COOK R.B.; MAPLETOFT R.J. Synchronization of estrus in beef cattle with norgestomet and estradiol valerate. **Canadian Veterinary Journal**, v.40, n.3, p.173-178,1999.
- 44.KESLER, D.J., FAVERO, R.J., TROXEL,T.R. Comparison of hydron and silicone implants in the bovine norgestomet and estradiol valerate synchronization procedure. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v.21, p.475-485, 1995.
- 45.KESLER. D.J., FAVERO, R.J. Estrus sunchronization in beef females with norgestomet and estradiol valerate. **Agri-Practice**, v.17, p.12-7,1996.
- 46.KERR, D.R.; MCGOWAN, M.R.; CARROLL C.L.; BALDOCK F.C. Evaluation of three estrus synchronization regimens for use in extensively managed bos-indicus and bos indicus/taurus heifers in northenr australia. **Theriogenology**; v. 36, p. 129-138, 1991.
- 47.KOLB, E. Fisiología de la Reprodución. In: KOLB, E. **Fisiologia Veterinária**. 2 ed., Zaragoza: Acribia, cap.16, p.735-769, 1979.
- 48.LAGO, I.; UGON, P.A.; VELASQUEZ, M.; PIAGGIO, J. Comparison of three different estrus synchronization treatments with and without “set time” insemination. **Theriogenology**; v.53, p.200, 2000.
- 49.LARSON, L.L.; BALL, P.J.H.; Regulation of estrous cycles in dairy cattle: A review. **Theriogenology**, v.38, p.255-267, 1992.

50. MACMILLAN, K.L.; PETERSON, A.J. A new intravaginal progesterone releasing 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.
51. MACMILLAN, K.L.; TAUFAN, 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, p.35-45, 1995.
52. MADUREIRA, E.H.; BARBUJO, 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<sub>2</sub> $\alpha$  e ao 17 $\beta$ -estradiol. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.21, p.94-97, 1997.
53. MAPLETOFT R.J.; BÓ, G.A.; MARTINEZ M.; COLAZO, M.; CACCIA, M.; ADAMS G.P; Control del desarrollo folicular y su uso en programas de inseminación artificial a tiempo fijo en ganado de carne. **In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL**, 3., Córdoba. **Anais**. p.51-69, 1999a.
54. MAPLETOFT R.J., MARTINEZ MF., ADAMS GP., KASTELIC JP., BURNLEY CA., The effect of estradiol preparation on follicular wave emergence and superovulatory response in norgestomet-implanted cattle. **Theriogenology**; v. 51, p. 411, 1999b.
55. MARES, S.E.; PETERSON L.A.; HENDERSON E. A.; DAVENPORT M.E. Fertility of beef herds inseminated by estrus or by time following Syncro-Mate (SMB) treatment. **J. Anim. Sci.**, v.45, p.185, 1977.

- 56.MC MILLAN, W.H.; HALL, D.R.; EVANS, P.H.; DAY, A.M. Twinning in beef cows: preliminary results from embryo transfer studies. **Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production**, v.53, p.226-266, 1993.
- 57.MIALOT, J.P.; PONSART, C.; GIPOULOU, C.; BIHOREAU, J.L. ROUX, M.E.; DELETANG, F. The fertility of autumn calving suckler beef cows in increased by the addition of prostaglandin to progesterone and eCG estrus synchronization treatment. **Theriogenology**, v.49, p. 1353-1363, 1998.
- 58.MIHM M., BAGUISI A., BOLAND MP., ROCHE JF. Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. **J Rep Fertil**; v.102, p.123-130,1994.
- 59.MULVEHILL, P.; SREENAN, J.M. Improvement of fertility in post-partum beef cows by treatment with PMSG and progestagen. **J. Reprod. Fert.**; v.50, p.323-325, 1977.
- 60.ODDE K. G., A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **J Anim Sci**; v.68, p.817-830, 1990.
- 61.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.915-923, 1995.
- 62.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.461-467, 1991.
- 63.RANDEL, R.D.; CALLAHAN, C.J.; ERB, R.E.; GARVERICK, H.A. BROWN, B.L. Effect of melengestrol acetate on plasma progesterone, luteinizing

hormone and total corticoids in dairy heifers. **J. Anim. Sci.**, v.35, p.389, 1972.

64.RIBEIRO FILHO, A.L.; VALE FILHO, V.R.; ANDRADE, V.J.; CHALHOULB, C.L. DANTAS, M.S. Efeito do momento da inseminação sobre a taxa de prenhez em vacas zebus, após a sincronização do estro e da ovulação. **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v.23, n.3, p.311-312, 1999a.

65.RIBEIRO FILHO, A.L.; VALE FILHO, V.R.; ANDRADE, V.J.; DANTAS, M.S.; OLIVEIRA, J.V. Effect of time of insemination on Zebu cows fertility synchronized with OvSynch protocol. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.27, n.1, p.270, 1999b.

66.RIGOLON, L.P.; CAVALIERI, F.L.B.; BETINI, C.M. Use of PMSG in the synchronization of estrus in heifers receptors on the number of corporea lutea and pregnancy rate after inoovulation. **Arquivo da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v.27, n.1, p.271, 1999.

67.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.

68.SANCHEZ T., WEHRMAN ME., BERGFELD EG., PETERS KE., KOGIMA FN., CUPP AS., MARISCAL V., KITTOK RJ., KINDER JE. Pregnancy rate is greather when the the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to sincronize time of estrus in cows and heifers. **Biol Reprod**, v. 49, p.1102-1107, 1995.

69.SAVIO, J.D.; BOLAND, M.P.; HYNES, N.; MATTIACI, M.R.; ROCHE, J.F. Will the first dominant follicle of the estrous cycle of heifers ovulate following luteolysis on day 7. **Theriogenology**, v.33, p.677, 1990.

- 70.SCHMITT, 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.**; v74, p.1084-1091, 1996.
- 71.SENGER, P.L. The estrus detection problem: new concepts, technologies and possibilities. **J. Dairy Sci.**, v.77, p.2745-2753, 1994.
- 72.SMITH M.W., STEVENSON J.S. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2a and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum. **J Anim Sci**; v.73, p.3743-3751,1995.
- 73.SMITH, R.D.; POMERANZ, A. J.; BEAL, W.E.; MCCANN, J.P.; PILBEAM, T.E. HANSEL, W. Insemination of Holstein heifers at a preset time after estrus cycle synchronization using progesterone and prostaglandin. **J. Anim. Sci.**, v.58, p.792, 1984.
- 74.TANABE, T.Y.; HANN, R.C. Synchronized estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F2 $\alpha$ . Influence of stage of cycle at treatment. **J. Dairy Sci.**, v.58, p.805-811, 1984.
- 75.WILDMAN, E.E.; JONES, G.M.; WAGNER,P.E.; BOMAN, R.L. A dairy body condition scoring system and its relationship to select production characteristics. **J. Dairy Sci.**, v.65, p.495-501, 1982.
- 76.WILTBANK, J.N., ZIMMERMAN. D.R., INGALLS, J.E., ROWDEN,W.W Use of progestational compounds alone or in combinations with estrogen for synchronization os estrus. **J. Animal Sci.**, v.20. p.990-994, 1965.

77. 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.
78. WILTBANK, J.N.; KASSON, C.W. Synchronization of estrus in cattle with an oral progestational agent and an injection of an estrogen. **J. Anim. Sci.**, v.27, p.113, 1968.
79. WILTBANK, M.C.; PURSLEY, J.R.; FRICKE, P.M.; VASCONCELOS, J.; GUENTER, J.N.; GIBBONS, J.R.; GINTHER, O.J. Development of AI and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. In: ANNUAL CONVENTION PORTLAND, 15, Oregon. Proceedings. Oregon: American Embryo Transfer Association, p.23-44, 1996.
80. ZIMBELMAN, R.G., SMITH, L. W. Control of ovulation in cattle with melengetrol acetate. I. Effect of dosage and route of administration. **J. Reprod. Fertil.**, v.11, p.185, 1966.

## ABSTRACT

### **Association of Different Dosis of Equine Chorionic Gonadotrophin (eCG) on the Treatment with Progestins and Estrogen in Beef Cows.**

Author: Virginia Cordeiro Gonçalves

Advisor: Prof. Dr. Ricardo Macedo Gregory

Two experiments were conducted, aiming to verify the effect of different dosis of eCG, after treatment with progestogen and estrogen, on the fertility of beef cows. On experiment 1 were used 133 cows Braford breed ( $\frac{1}{2}$  Nelore x  $\frac{1}{2}$  Hereford), multiparous, 150 to 155 days post-partum, aged 4 to 6 years old and with body condition score (ECC) 3 (scale 1-5). All the animals received subcutaneous ear implant (day 0) with 3 mg norgestomet (N) and an intramuscular (im) injection of 3 mg N e 5 mg de estradiol valerate (VE). In the moment of implant removal (day 10), the cows were separated, randomly, into 4 groups: Group I (n=33): did not receive eCG; Group II (n=34): 300 UI eCG; Group III: 500 UI eCG and Group IV: 700 UI eCG. The artificial inseminations (AIs) were performed at a fixed time, of 52-54 hs after the implant removal, with semen of proven fertility. After 15 days, the cows remained with bulls for 45 days for natural mating (MN) if they returned to estrus. At 40 and 100 days after IA, rectal palpation was performed to check the pregnancy to identify the animals that conceived with IA or MN respectively. The pregnancy rates obtained in each group were: Group I: 33,3% (11/33); Group II: 50,0%(17/34); Group III: 39,4% (13/33); Group IV: 45,5% (15/33). For statistical analysis was used the Chi-square test. The pregnancy rates were not significantly different ( $p=0,539$ ) concerning to the dose of eCG. The total pregnancy rates after all the season of MN were: Group I: 78,8% (26/33); Group II: 79,4% (27/34); Group III: 90,9% (30/33); Group IV: 75,8% (25/33). There was also no significant difference ( $p=0,411$ ) between groups. On Experiment 2, 56 cows (27 Nelore x Charolais and 26 Braford), multiparous, non lactating, cyclic, with ages from 4 to 7 years and ECC 3,5. The cows received subcutaneous ear implant with 3 mg N and injection (im) of 3 mg N and 5 mg VE at the day of the implant (day 0). When extracting the implant (day 10) the animals were divided into 3 groups for receiving the injection (im) of eCG: Group I (n=18): 500 UI eCG; Group II (n=19): 1.000 UI eCG and Group III (n=19): 1.200 UI eCG. From the day following of removal implant and injection of eCG, the animals were watched for estrus control twice a day within an interval of 12 hs. The IAs were performed 12 hs after estrus identification. In the animals that did not present estrus it was made an IA at a fixed time of 52-54 hs after implant removal. The pregnancy check was made by rectal palpation at 45 days after the IA. The cows that were pregnancy positive were watched during the calving season, aiming to evaluate the number of products born, since it was used high dosis of eCG that could

give multiple births. With the Chi-square, was analyzed the presence of estrus in relation to the dosis of eCG used in each group. Between 36 to 48 hs after implant removal, 87,5% of the animals had estrus. There was no difference ( $p=0,866$ ) between groups, indicating no relationship between estrus and dosis of eCG. The pregnancy rates in each group also had no difference ( $p=0,25$ ) according to the dosis of eCG. Group I: 44,4% (8/18); Group II: 36,8% (7/19), Group III: 63,2% > (12/19). The pregnancy rates of animals that did not show estrus and that were inseminated at a fixed time were analyzed using Logistic Regression and had no difference ( $p=0,666$ ) from those inseminated 12 hs after detection of estrus. There were no twin births or distocia in cows of the different groups. In these experimental conditions the use of eCG, at the end of the treatment with progestogen and estrogen, did not interfere on the results of pregnancy in non-lactating cows or lactating, inseminated 12 h after estrus or at a fixed time, did not have effect on the onset of estrus in non-lactating cows and, in the dosis used, did not originate twin pregnancies. The IA of non-lactating cows performed at a fixed time of 52-54 h after the treatment had pregnancy rates similar to those observed on the IAs performed 12 after identification of estrus.

**Key-words:** eCG, norgestomet, estradiol valerate, cows, fertility, fixed-time artificial insemination.