

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/228486528>

Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo

Article · January 2008

CITATIONS

6

READS

3,071

5 authors, including:



Pietro S Baruselli

University of São Paulo

354 PUBLICATIONS 4,109 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



José Octavio Jacomini

Universidade Federal de Uberlândia (UFU)

20 PUBLICATIONS 111 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Jose Nelio Sousa Sales

Universidade Federal de Lavras (UFLA)

80 PUBLICATIONS 618 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Gabriel Crepaldi

University of São Paulo

24 PUBLICATIONS 218 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Genomic Selection in Cattle [View project](#)



Sperm chromatin proteins, RNAs and genes working in the early embryonic development in cattle [View project](#)

Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo

Pietro S. Baruselli¹, José Octavio Jacomini^{1,2}, José Nélio S. Sales¹, Gabriel A. Crepaldi¹

¹Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, São Paulo-SP, Brasil. ²Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, Brasil. barusell@usp.br

1. Introdução

O rebanho bovino brasileiro é composto por mais de 200 milhões de animais (MAPA, 2007), sendo que o gado zebu (*Bos indicus*) corresponde a aproximadamente 80% desse patrimônio. A predominância desse grupo genético se deve a maior adaptabilidade às condições climáticas (altas temperaturas e umidade) e a disponibilidade de alimentos (sazonalidade quali-quantitativa da produção de forrageiras) encontrados no Brasil tropical. Porém, apesar dessas características adaptativas dos zebuínos às condições tropicais, na grande maioria dos rebanhos brasileiros observa-se comprometimento nos índices reprodutivos, principalmente devido ao prolongamento do período de anestro pós-parto. Além da baixa eficiência reprodutiva, o rebanho brasileiro apresenta baixo número de vacas inseminadas artificialmente (apenas 6% das vacas em idade reprodutiva). Historicamente, a inseminação artificial revelou-se como a ferramenta mais eficiente do melhoramento genético, tanto em bovinos de leite quanto em bovinos de corte. Dessa forma, torna-se necessária a adoção de boas técnicas de manejo (nutrição, sanidade, etc), associadas ao emprego da IA com sêmen de touros provados geneticamente com o objetivo de melhorar a eficiência reprodutiva, com conseqüente aumento na produção de bezerros de qualidade e na rentabilidade da propriedade.

Existe na atualidade tecnologia para sincronizar o crescimento folicular e a ovulação em bovinos. Com essa finalidade, emprega-se uma seqüência de tratamentos (protocolos) que tem como finalidade sincronizar a ovulação para o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), que dispensa a necessidade de detecção do cio, colaborando sobremaneira para praticidade do emprego dessa biotecnologia. Os trabalhos científicos apontam que a IATF pode ser empregada mesmo em vacas em anestro, antecipando a ovulação pós-parto e melhorando a eficiência reprodutiva do rebanho (Baruselli et al., 2002). No entanto, nessas condições, as pesquisas indicam a importância do tratamento com eCG (gonadotrofina coriônica equina) para aumentar a taxa de ovulação e de prenhez após o emprego de protocolos de sincronização para IATF (Baruselli et al., 2003, Bo et al., 2003, Baruselli et al., 2004).

Além do emprego na IATF, a eCG tem importante papel em programas de superovulação e transferência de embriões em tempo fixo. No relatório da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (2007), apesar da crescente produção brasileira de embriões *in vitro* (196.000), ainda foram produzidos 70.000 embriões *in vivo* (Viana e Camargo, 2007), o que projeta aproximadamente 15.000 superovulações por ano. Esses resultados destacam o Brasil no cenário mundial como primeiro produtor de embriões bovinos.

Trabalhos recentes apontam a possibilidade do emprego da eCG para superovulação tanto em *Bos indicus* como em *Bos taurus*, com o objetivo de facilitar o manejo (dose única), sem comprometer a produção de embriões. Inúmeros fatores interferem na eficiência de programas de TE, com destaque especial às receptoras (Spell et al., 2001; Hasler, 2001). Isto porque, em geral, os programas de TE comerciais apresentam baixas taxas de aproveitamento (% de receptoras aptas à inovulação/total de receptoras tratadas). Normalmente, em um lote de receptoras tratadas com protocolos tradicionais (uso de prostaglandina associado à detecção de estro), somente 40 a 50% dos animais são aproveitados para a inovulação. Considerando-se uma taxa de concepção de 50% do total de animais aproveitados, obtém-se apenas 20 a 25% de gestações ao final do tratamento (Baruselli et al., 2000a e 2000b; Bó et al., 2002). Desta forma, o incremento das taxas de aproveitamento e de concepção das receptoras é fundamental para maximizar a taxa de prenhez e, com isso, elevar o retorno zootécnico e econômico da TE. Em receptoras foram apontados efeitos positivos da eCG em protocolos de transferência de embriões em tempo fixo aumentando a taxa de aproveitamento das receptoras e induzindo a formação de um corpo lúteo que produz mais progesterona no dia da inovulação dos embriões (Baruselli et al., 2000c; Bó et al., 2002).

Considerando os conhecimentos existentes sobre inseminação artificial, superovulação e transferência de embriões em tempo fixo o objetivo desta revisão é discutir os avanços nos protocolos de sincronização, enfatizando as possibilidades do emprego da eCG.

2. Fisiologia do pós-parto

Segundo o Anualpec de 2004, o rebanho bovino brasileiro é composto por mais de 73 milhões de vacas e novilhas em idade reprodutiva. Nesse mesmo ano a produção de bezerros foi de aproximadamente 42 milhões, representando taxa de desmama de 57,6%. Levando em conta uma taxa de mortalidade de bezerros de 8%, a taxa de nascimento do rebanho brasileiro é de 65%, o que resulta em intervalo entre partos de 18 meses (540 dias). Projeta-se, também, um período de serviço (parto/concepção) de 8,5 meses (255 dias). Esses dados são indicativos de que a baixa eficiência reprodutiva do rebanho brasileiro se deve principalmente ao longo intervalo entre o parto e a concepção.

Após o parto, a fêmea bovina tem que criar um bezerro saudável e estabelecer uma nova gestação. O padrão de desenvolvimento folicular ovariano que prevalece durante a gestação deverá agora ser substituído por uma seqüência de eventos que culminará no crescimento de um folículo dominante que produz estrógeno suficiente para manifestação do comportamento de estro, seguido de ovulação e formação de um corpo lúteo funcional. Esses requisitos são necessários para o restabelecimento da fertilidade no período pós-parto nos diversos tipos de criação (Rhodes *et al.*, 2003). No entanto, o que se observa em muitos casos nas condições brasileiras de manejo é um longo período de anestro pós-parto, tanto em *Bos indicus* quanto em *Bos taurus*, apesar de haver crescimento folicular durante essa fase (Wiltbank *et al.*, 2002). Existem pesquisas que indicam que logo após o parto, verifica-se baixa quantidade de LH armazenado na hipófise, sendo essa característica fisiológica limitante para o restabelecimento da atividade ovariana no período pós-parto (Yavas e Walton, 2000). Nesse período não foram relatadas alterações na liberação de FSH.

No final da gestação ocorre diminuição da concentração de gonadotrofinas devido à intensa retroalimentação negativa da progesterona e do estrógeno. Logo após o parto (~4 dias), nota-se elevação das concentrações de FSH e, conseqüentemente, emergência da primeira onda de crescimento folicular (Wiltbank *et al.*, 2002). No entanto, para que ocorra a ovulação do folículo dominante, a freqüência dos pulsos de LH deve ser de aproximadamente 1 pulso por hora (revisado em Bó *et al.*, 2003). A ausência ou a inadequada pulsatilidade de LH faz com que o folículo dominante não se desenvolva muito além do diâmetro da divergência folicular. Wiltbank *et al.* (2002) especularam que zebuínos podem apresentar deficiência de FSH no período pós-parto. Os autores se basearam no estudo de Ruiz-Cortez e Olivera-Angel (1999), no qual se verificou que folículos de vacas zebuínas não alcançavam diâmetros superiores a 6mm durante o anestro pós-parto. Contudo, estudos recentes sobre divergência folicular em Nelore (Gimenes *et al.* 2005b; Sartorelli *et al.*, 2005; Castilho *et al.*, 2006), constataram que o folículo de *Bos indicus* atinge a dominância com diâmetro inferior ao relatado para *Bos taurus* (8,5mm), com aproximadamente 6mm. Portanto, condições anovulatórias freqüentemente verificadas em zebuínos não parecem estar associadas à deficiência de FSH, que promove o crescimento até a divergência, e sim de LH, responsável pela continuidade do crescimento e indução da ovulação do folículo dominante. Sendo assim, especula-se que em fêmeas zebuínas em anestro severo, com comprometimento na liberação de LH, os folículos não atingem diâmetros superiores a 6mm. Já, em fêmeas taurinas nas mesmas condições de anestro os folículos crescem até 8,5mm de diâmetro.

Quanto ao padrão de liberação do LH no período pós-parto, existem indícios de que zebuínos e taurinos apresentem diferenças nas concentrações plasmáticas dessa gonadotrofina. Em um experimento, D'Occhio *et al.* (1990) observaram que, aos 40 dias pós parto, vacas *Bos taurus* (Hereford Shorthorn) apresentaram maior concentração plasmática de LH ($0,66 \pm 0,04$ ng/ml) do que vacas *Bos indicus* ($0,56 \pm 0,03$ ng/ml; Brahman). Essa diferença aumentou à medida que a análise se distanciou do parto. Nesse mesmo estudo, constatou-se que vacas *Bos taurus* tiveram maior secreção pulsátil de LH e taxa de prenhez entre 50 e 120 dias após o parto que vacas *Bos indicus*. Após o restabelecimento dos estoques hipofisários de LH (15 a 30 dias de pós-parto; Yavas e Walton, 2000), os principais fatores que comprometem a ovulação são a condição nutricional e a amamentação (Montiel e Ahuja, 2005).

Quanto à nutrição, sabe-se que animais criados em regiões tropicais apresentam comprometimento na atividade ovariana pós-parto devido principalmente ao inadequado conteúdo energético fornecido pelas pastagens. Dessa maneira, a energia ingerida pelo animal é priorizada para funções vitais de manutenção e de produção de leite, em detrimento das funções reprodutivas (revisado em Montiel e Ahuja, 2005). Os efeitos resultantes do comprometimento nutricional são a supressão na liberação de GnRH e, conseqüentemente, diminuição na frequência dos pulsos de LH (Schillo, 1992), reduzindo o diâmetro máximo do folículo dominante e a duração da onda de crescimento folicular (Rhodes *et al.*, 1995; Wiltbank *et al.*, 2002). De acordo com esses achados, a avaliação do escore de condição corporal (ECC) e da nutrição do rebanho tornam-se importantes ferramentas do manejo reprodutivo (Montiel e Ahuja, 2005).

Outro fator que pode inibir a ovulação no pós-parto é a amamentação, por reduzir a liberação de GnRH e a secreção de LH (Williams, 1990). Essa inibição é exercida pela secreção de um peptídeo opióide hipotalâmico (β -endorfina) em resposta ao estímulo da amamentação. O efeito da amamentação na regulação da liberação tônica de LH é determinado pela habilidade da vaca em identificar seu bezerro. A visão e o olfato exercem um papel crítico no desenvolvimento da relação da mãe com o bezerro, permitindo que a vaca identifique o seu bezerro. A remoção de ambos os sentidos atenua os efeitos negativos da amamentação na secreção de LH. Assim, existem trabalhos que apontam que a relação da vaca com o bezerro é responsável por prolongar o anestro pós-parto. Esse efeito supressivo é independente de estímulos neurosensoriais no úbere (Montiel e Ahuja, 2005).

Essas alterações fisiológicas podem afetar a maturação final e a ovulação do folículo dominante. Além do ato de amamentar, o olfato, a visão, o estímulo tátil e a audição podem também induzir essas alterações fisiológicas (Williams *et al.*, 1996). Para atenuar o efeito da presença do bezerro, realiza-se desmame total, parcial (permitir ao bezerro acesso à mãe uma ou duas vezes ao dia) ou temporário (remoção do bezerro durante 48 a 96h; revisado em Yavas e Walton, 2000; Montiel e Ahuja, 2005). Essas técnicas de manejo podem ser empregadas para aumentar a pulsatilidade de LH e promover o crescimento folicular e a ovulação de rebanhos em anestro, isoladamente ou em conjunto com tratamentos hormonais.

Assim, os dados acima apresentados demonstram a importância do conhecimento das particularidades da fisiologia reprodutiva de *Bos indicus* e de *Bos taurus* para empregar biotécnicas que buscam a multiplicação de indivíduos geneticamente superiores e a melhoria da eficiência reprodutiva.

3. Propriedades farmacológicas da eCG

A eCG é um fármaco de meia vida longa (até 3 dias), produzido nos cálices endometriais da égua prenhe (40 a 130 dias; Murphy e Martinuk, 1991), que se liga aos receptores de FSH e LH dos folículos e aos receptores de LH do corpo lúteo (Stewart e Allen, 1981). Em eqüinos, a eCG causa ovulação ou luteinização de folículos durante a gestação, com conseqüente aumento da progesterona circulante (revisado por Murphy e Martinuk, 1991).

A eCG é composta de duas subunidades (α - composta por 96 aminoácidos; e β - composta por 149 aminoácidos). Uma característica importante da molécula de eCG é a existência de grande quantidade de carboidratos (aproximadamente 45% de sua massa) principalmente a N-acetil neuramina (ou ácido siálico), primordialmente presente na subunidade β da molécula de eCG, o que proporciona uma grande meia vida a este composto químico (Murphy and Martinuk, 1991). Ainda, devido ao alto peso molecular e à presença de ácido siálico, a molécula de eCG é carregada negativamente, o que dificulta a sua filtração glomerular e aumenta ainda mais sua meia-vida. Devido a todos estes fatores, a meia-vida da eCG quando aplicado em bovinos é longa (revisado por Souza 2008).

A eCG quando administrada vacas em anestro cria condições para estimular o crescimento folicular e a ovulação, mesmo em vacas que tenham comprometimento na liberação de gonadotrofinas. Seu uso tem apresentado efeito positivo em rebanhos com baixa taxa de ciclicidade (anestro), em animais recém paridos (período pós parto inferior a 2 meses), em animais com condição corporal comprometida ($\leq 2,5$ na escala de 1 a 5; Baruselli et al., 2004a) e em animais que apresentam comprometimento no crescimento do folículo dominante devido à altos níveis de progesterona ao final do tratamento de

sincronização da ovulação (aumenta a taxa de ovulação; Baruselli et al., 2004b e aumenta a taxa de prenhez; Marques et al., 2005). Ainda, devido sua ação de LH e FSH e longa meia vida, a eCG pode ser utilizada em dose única em protocolos para superovulação em bovinos (Baruselli et al., 2008). O emprego da eCG também tem sido relatado em receptoras de embrião. Receptoras que recebem eCG durante o tratamento de sincronização apresentam aumento da taxa de ovulação e de aproveitamento, além de possuírem maiores níveis de progesterona circulante no diestro (Baruselli et al., 2000c), minimizando falhas no reconhecimento da gestação (Binelli et al., 2001) e aumentando a eficiência da transferência de embriões.

4. Utilização da eCG em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo

Existem na literatura científica controvérsias sobre o emprego da eCG em protocolos de sincronização para IATF. Alguns trabalhos indicam efeito positivo e outros demonstram que a eCG não aumenta a taxa de concepção à IATF. Os resultados de nosso grupo de pesquisa também apresentam variação quanto ao efeito da eCG na IATF. Após realização de inúmeros trabalhos com grande número de animais verificamos que em alguns experimentos o tratamento com eCG (400UI na retirada do dispositivo de P4) aumentou significativamente a taxa de concepção à IATF. No entanto, em outros experimentos nenhum efeito positivo foi encontrado (Tabela 1).

Tabela 1. Taxa de concepção à IATF (%) de vacas tratadas ou não com eCG no momento da retirada dos dispositivos de progesterona e ou progestágenos.

| Publicação | | Com eCG | Sem eCG | Valor de P |
|--------------------------|---------|-----------------------------|-----------------------------|------------|
| Baruselli et al., (2003) | Nelore | 55,1 (59/107) ^a | 38,9 (42/108) ^b | < 0,05 |
| Baruselli et al., (2003) | Brangus | 61,8 (199/332) | 59,6 (192/332) | > 0,05 NS |
| Marques et al., (2004) | Nelore | 58,1 (172/296) | 61,9 (179/289) | > 0,05 NS |
| Silva et al., (2004) | Nelore | 51,7 (155/300) ^a | 33,8 (101/299) ^b | < 0,05 |
| Rodrigues et al., (2004) | Nelore | 50,9 (56/110) ^a | 37,8 (37/98) ^b | < 0,05 |
| Penteado et al., (2004) | Nelore | 55,6 (125/225) ^a | 42,2 (98/232) ^b | < 0,05 |

NS=não significativo

Para tentar compreender o motivo da grande variação nos resultados da literatura iniciamos trabalhos procurando estudar o efeito do tratamento com eCG conforme o padrão de ciclicidade dos animais no início do protocolo de sincronização. Em pesquisa realizada com 215 vacas Nelore paridas (75 ± 19 dias pós-parto), mantidas a pasto no Estado de Mato Grosso do Sul (Baruselli et al., 2003), verificou-se efeito positivo da eCG conforme o grau de anestro. Em animais em anestro (sem CL; tanto com folículos grandes quanto pequenos) houve efeito positivo do tratamento com eCG, enquanto que, nos animais cíclicos (com presença de CL), não se notou aumento na taxa de concepção à IATF (Tabela 2). O efeito positivo da eCG foi mais evidente conforme aumentou a intensidade do anestro. Os resultados positivos da utilização da eCG somente em animais em anestro também foram constatados em pesquisa realizada na Argentina (Cutaia et al., 2003) e estão também apresentados e discutidos em revisões científicas (Bo et al., 2003 e Baruselli et al., 2004).

Tabela 2. Taxa de prenhez à inseminação artificial em tempo fixo conforme classificação da funcionalidade ovariana de vacas Nelore lactantes tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona (DP4) associado ou não ao tratamento com eCG na retirada do dispositivo (Dia 8).

| Classificação dos ovários | Taxa de prenhez | | Diferença (eCG – controle) | Valor de P |
|---------------------------|-----------------|--------------|----------------------------|------------|
| | DP4 | DP4 + eCG | | |
| A (presença de CL) | 55,5 (15/27) | 64,0 (16/25) | + 8,5% | 0,37 |
| B (fol (s) ≥ 8mm) | 34,4 (22/64) | 50,0 (29/58) | + 15,6% | 0,06 |
| C (fol (s) < 8mm) | 29,4 (05/17) | 56,5 (13/23) | + 27,1% | 0,08 |

Nosso grupo de pesquisa realizou outros experimentos para confirmar o efeito positivo do tratamento com eCG conforme a ciclicidade. Rodrigues et al. (2004) verificaram que apenas os animais em anestro (ausência de CL no início da sincronização) responderam positivamente ao tratamento com eCG [52,2% (47/90) vs 36,5% (27/74); $P < 0,05$]. Nos animais ciclando (presença de CL no início da sincronização) não foi verificado aumento da taxa de concepção após o tratamento com eCG.

Em outro estudo realizado por nosso grupo com o objetivo de avaliar os efeitos do uso do eCG na dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) comprovadamente em anestro e sincronizadas para IATF, verificou-se que o tratamento com eCG na retirada do implante auricular de progestágeno aumentou o diâmetro do folículo dominante (Figura 1), além de aumentar as taxas de ovulação e de concepção (Tabela 3). Esse efeito também foi verificado em novilhas Nelore ciclando tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR; Baruselli et al., 2004a). Animais cliclando (presença de CL no início do protocolo) apresentam aumento significativo nos níveis circulantes de progesterona durante o tratamento, o que pode comprometer a pulsatilidade de LH e o crescimento final do folículo dominante (Carvalho et al., 2008). As novilhas ciclando tratadas com eCG na retirada do dispositivo de progesterona apresentaram aumento significativo na taxa de ovulação [sem eCG = 50,0% (10/20) vs com eCG = 76,2% (16/21); $P < 0,05$; Baruselli et al., 2004a]. Verificamos que o tratamento com eCG também aumentou a taxa de prenhez de novilhas Nelore cliclando tratadas com dispositivo intravaginal de progesterona para IATF [sem eCG = 15,7% (31/197) vs com eCG = 34,9% (68/195); $P < 0,05$; Marques et al., 2004]. Apesar do aumento significativo do tratamento com eCG na taxa de prenhez os resultados foram abaixo do esperado, indicando que outros efeitos estão influenciando a eficiência da IATF em novilhas Nelore.

Tabela 3. Dinâmica folicular de vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes em anestro tratadas com implante auricular contendo progestágeno (Crestar) associado ou não ao eCG.

| | Com eCG (n=26) | Sem eCG (n=24) | P |
|---|---------------------------|---------------------------|------|
| Taxa de ovulação (%) | 73,1 (19/26) ^a | 50,0 (12/24) ^b | 0,04 |
| Intervalo entre a retirada da P4 e a ovulação (h) | 72,0 ± 1,1 | 73,0 ± 1,9 | 0,72 |
| Diâmetro máximo do folículo dominante (mm) | 1,22 ± 0,06 | 1,04 ± 0,07 | 0,04 |
| Diâmetro máximo do folículo ovulatório (mm) | 1,24 ± 0,05 | 1,21 ± 0,04 | 0,70 |
| Taxa de concepção (%) | 46,2 (12/26) ^a | 20,8 (5/24) ^b | 0,02 |
| Taxa de concepção dos animais que ovularam (%) | 63,2 (12/19) | 41,7 (5/12) | 0,12 |

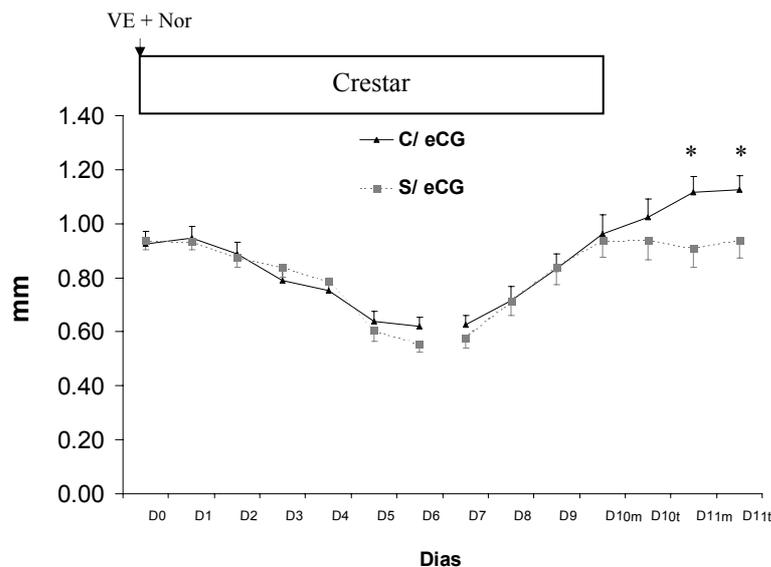


Figura 1. Dinâmica folicular de vacas Nelore em anestro tratadas com protocolo Crestar associado ou não a 400 UI de eCG no momento da retirada do implante auricular (dia 9).

Com o objetivo de compreender melhor o efeito da eCG na IATF em vacas de corte realizamos um estudo retrospectivo (Baruselli et al. 2004) para avaliar o efeito do tratamento com eCG em função da condição corporal (escala 1-5) dos animais no momento do tratamento de sincronização da ovulação. Nesse estudo foram avaliadas 1987 IATFs realizadas em vacas Nelore tratadas ou não com eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona (Figura 2). Verificou-se efeito positivo do tratamento com eCG somente nos animais com ECC ≤ 3 . Em animais com satisfatória condição corporal (> 3) não foi constatado efeito positivo do tratamento com eCG na taxa de concepção. A condição corporal está frequentemente relacionada à ciclicidade (D'Acchio et al., 1990; Viscarra et al., 1998). Assim, animais com boa condição corporal apresentam alta taxa de ciclicidade, o que dispensa o tratamento com eCG, conforme discutido anteriormente.

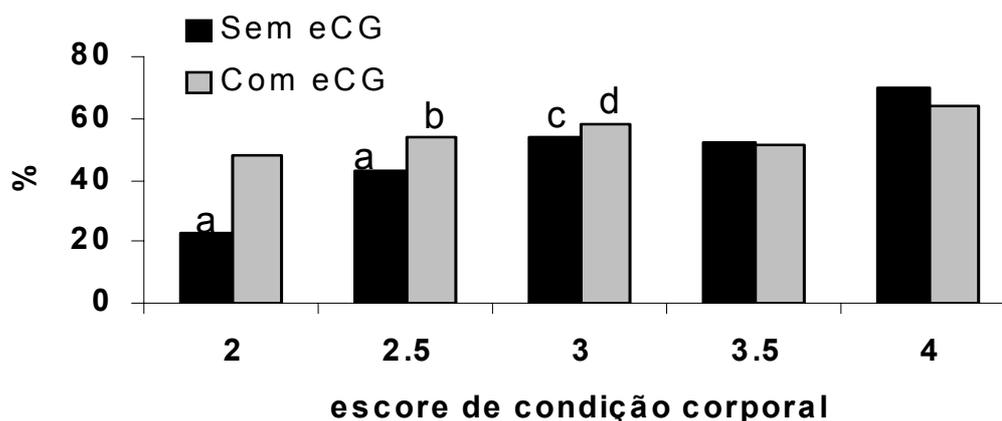


Figura 2. Taxa de concepção de vacas *Bos indicus* (Nelore) lactantes (n= 1.984) tratadas com ou sem eCG no momento da retirada do dispositivo intravaginal de progesterona conforme o escore de condição corporal.

Para verificar se o tratamento com eCG no momento da retirada dos dispositivos de progesterona interfere no intervalo entre a retirada do dispositivo e a ovulação, o que poderia influenciar os resultados da IATF, realizamos uma seqüência de experimento que estão apresentados na Tabela 4. Os resultados das investigações demonstraram que o tratamento com eCG na retirada dos dispositivos de progesterona não influencia o intervalo entre a retirada dos dispositivos e a ovulação nas várias categorias estudadas, sugerindo que vacas que recebem eCG devem ser inseminadas no mesmo momento que vacas que não receberam eCG.

Tabela 4. Intervalo entre a retirada do dispositivo de progesterona e ou progestágeno e a ovulação (horas) em animais tratados ou não com eCG na retirada do dispositivo.

| | Categoria | Sem eCG | Com eCG | Valor de P |
|--------------------------------|--------------------------|------------|------------|------------|
| <i>Marques et al., 2003</i> | 50 (vacas ½ sangue) | 78,0 ± 3,1 | 74,2 ± 4,0 | > 0,05 |
| <i>Baruselli et al., 2004a</i> | 41 (novilhas Nelore) | 72,0 ± 3,1 | 72,0 ± 2,5 | > 0,05 |
| <i>Sá Filho et al., 2004</i> | 50 (vacas Nelore) | 72,0 ± 1,1 | 73,0 ± 1,9 | > 0,05 |
| <i>Souza et al., 2006</i> | 45 (vacas Holandesas) | 77,3 ± 2,2 | 72,3 ± 2,8 | > 0,05 |

Essa seqüência de estudos é sugestiva de que a eCG tem efeito positivo somente em animais em anestro. Isso se deve, provavelmente, a ausência de pulsatilidade adequada de LH para promover o crescimento folicular do folículo dominante e para criar condições de ovulação ao final do protocolo de sincronização. Pela ação prolongada (~3 dias) de FSH e LH após o tratamento com eCG, o comprometimento na liberação de LH seria minimizado e o folículo dominante teria condições de crescer e de ovular. No caso de vacas que apresentam condições fisiológicas de liberação adequada de LH (vacas ciclando e em boas condições de manejo) o tratamento com eCG se torna dispensável.

Em outros estudos observamos que os animais que receberam eCG apresentaram maiores concentrações plasmáticas de progesterona no diestro subsequente ao protocolo de sincronização da ovulação (Tabela 5). Resultados semelhantes foram observados em vacas de leite de alta produção (Figura 3). Esses dados sugerem que o aumento na taxa de concepção após o tratamento com eCG pode também ser devido à elevação nas concentrações plasmáticas de progesterona. Mann et al (1999) demonstraram que vacas que apresentam maiores concentrações de progesterona no diestro apresentam melhores condições de crescimento embrionário e de reconhecimento materno da gestação, culminando em maiores taxas de concepção. No Brasil, já existem trabalhos que também relataram correlação positiva entre a concentração plasmática de progesterona e a taxa de concepção em receptoras de embrião bovino (Reis et al., 2004).

Tabela 5. Concentração plasmática de progesterona (ng/mL) após a ovulação sincronizada de em animais tratados ou não com eCG.

| | Número de animais e categoria | Dia da avaliação da [P4] após a ovulação | Sem eCG | Com eCG |
|--------------------------------|-------------------------------|--|------------------------|------------------------|
| <i>Baruselli et al., 2000c</i> | 59 (receptoras) | Dia 7 | 1,4 ± 0,8 ^a | 4,2 ± 3,7 ^b |
| <i>Marques et al., 2003</i> | 50 (vacas ½ sangue) | Dia 12 | 6,4 ± 0,5 ^a | 8,6 ± 0,4 ^b |
| <i>Baruselli et al., 2004a</i> | 41 (novilhas Nelore) | Dia 12 | 2,2 ± 0,2 ^a | 4,3 ± 0,6 ^b |
| <i>Sá Filho et al., 2005</i> | 172 (novilhas Nelore) | Dia 5 | 3,6 ± 0,7 ^a | 6,6 ± 1,0 ^b |

Assim, pode-se supor que o aumento da taxa de concepção em animais tratados com eCG pode estar relacionado a: 1) incremento na taxa de ovulação, principalmente em animais em anestro, e; 2) aumento das concentrações plasmáticas de progesterona no diestro do ciclo subsequente à IATF, que pode melhorar o desenvolvimento embrionário e a manutenção da gestação.

4.1 Emprego da eCG para IATF em vacas Holandesas de alta produção

Vacas de leite de alta produção apresentam maior taxa de ciclicidade que vacas de corte criadas a pasto. Provavelmente devido a essa característica, os trabalhos que realizamos não evidenciaram aumento na taxa de ovulação após o tratamento com eCG em vacas Holandesas em lactação (Souza et al., 2006, Souza, 2008). No entanto, verificou-se, como em vacas e novilhas de corte, aumento nas concentrações de progesterona no diestro subsequente a sincronização com eCG (Figura 3). O eCG parece estar aumentando a capacidade esteroidogênica do CL em uma fase crítica do desenvolvimento embrionário, minimizando falhas no reconhecimento fetal da gestação, uma vez que vacas de leite de alta produção possuem alto metabolismo hepático dos esteróides (Sartori et al., 2002).

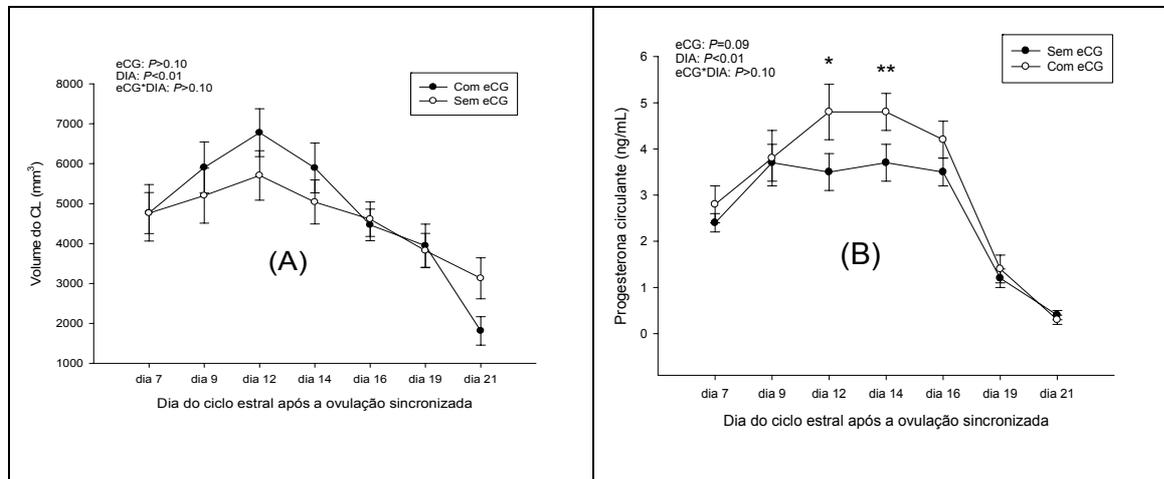


Figura 3. Efeito da eCG no volume do CL (A) e da P4 circulante (B) durante o ciclo estral subsequente ao uso de protocolos de IATF em vacas de leite de alta produção. * $P < 0.05$; ** $P < 0.10$ (Souza, 2008).

A taxa de concepção à IATF das vacas Holandesas variou conforme o tratamento e a condição corporal. Os animais de menor escore de condição corporal ($< 2,75$) que não receberam eCG no final do protocolo hormonal, apresentaram reduzidas taxas de concepção que os animais de menor ECC tratados com eCG (Figura 4). Constatou-se, também, efeito positivo do tratamento com cipionato de estradiol nos animais com ECC $< 2,75$ que não receberam eCG (Figura 4). Nos animais com escore de condição corporal superior a 2,75 não se verificou efeito positivo do tratamento com eCG (Souza, 2008).

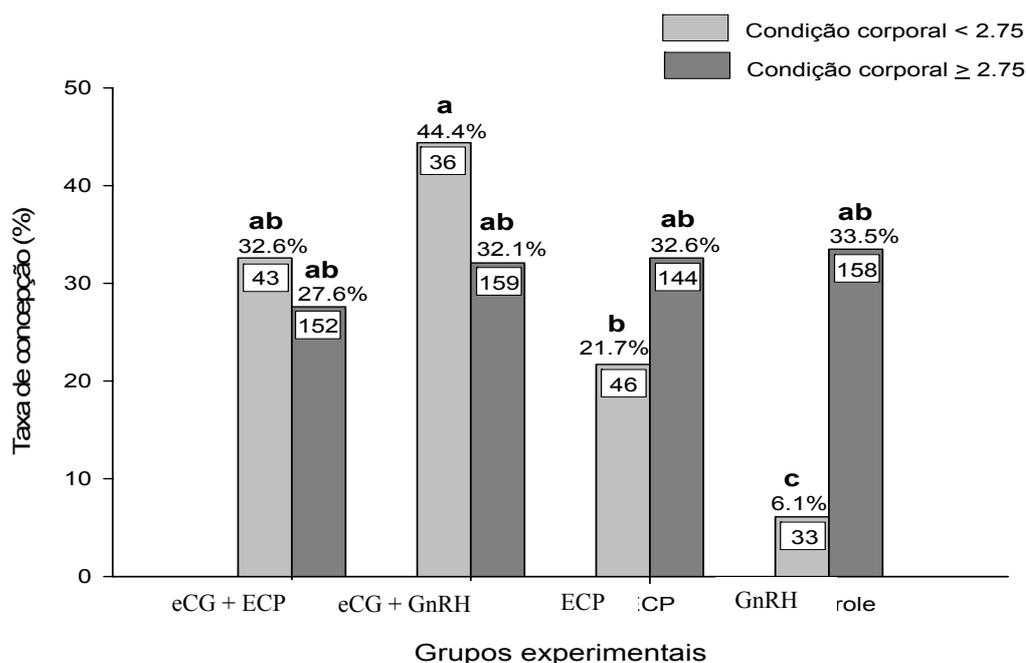


Figura 4. Taxa de concepção para animais com condição corporal <2,75 e ≥2,75 (escala de 1 a 5) conforme o grupo experimental. Letras diferentes entre colunas diferem estatisticamente; $P < 0.05$. (Souza, 2008)

5. Uso da eCG e do desmame temporário associado aos programas de IATF

O uso do desmame temporário associado a programas de sincronização de estro tem sido estudado com intuito de aumentar a eficiência reprodutiva em bovinos (Quesada et al. 2001). A retirada temporária dos bezerras aumenta a pulsatilidade de LH (Willians et al., 1996) e pode colaborar para o crescimento folicular e a ovulação. Com o objetivo de estudar o efeito do desmame temporário (desde a retirada do implante até a IATF= 54 horas) e da eCG (no momento da retirada do implante) em vacas Nelore submetidas à IATF, foram sincronizadas 459 vacas paridas há mais de 60 dias em um experimento fatorial 2x2 (Tabela 6; Penteadó et al., 2004). Os resultados são sugestivos de que tanto o tratamento com eCG quanto o desmame temporário foram efetivos em aumentar a taxa de concepção à IATF, provavelmente devido ao elevado percentual de anestro do rebanho empregado no experimento.

Tabela 6. Taxa de prenhez de vacas Nelore (*Bos indicus*) lactantes tratadas com implante auricular contendo progesterona, com ou sem eCG e com ou sem desmame temporário por 54 horas.

| eCG | Desmama | N | Taxa de Prenhez (%) |
|---------------------------|------------|-----|-----------------------------|
| S/ eCG | S/ Desmama | 118 | 37,3 (44/118) ^c |
| | C/ Desmama | 114 | 47,5 (54/114) ^{bc} |
| C/ eCG | S/ Desmama | 112 | 52,7 (59/112) ^{ab} |
| | C/ Desmama | 115 | 58,3 (67/115) ^a |
| EFEITOS PRINCIPAIS | | | |
| S/ eCG | | 232 | 42,2 (98/232) ^b |
| C/ eCG | | 227 | 55,5 (126/227) ^a |
| | S/ Desmama | 230 | 44,8 (103/230) ^b |
| | C/ Desmama | 229 | 52,8 (121/229) ^a |

a ≠ b ≠ c na mesma coluna (P < 0,05)

4.3 Redução do intervalo entre o parto e a IATF empregando o tratamento com eCG

O intervalo de partos recomendado zootecnicamente é de aproximadamente 12 meses. Para alcançar esse índice, as vacas devem tornar-se gestantes rapidamente após o parto (entre 70 e 90 dias). Assim, para atingir a meta de 12 meses, as vacas necessitam ser sincronizadas e inseminadas precocemente.

Com o objetivo de reduzir o intervalo entre o parto e a IATF estudamos (Ayres et al. (2007) o efeito da eCG conforme o período pós-parto e o escore de condição corporal. Foi observado aumento na taxa de concepção à IATF, tanto em animais com alto quanto com baixo escore de condição corporal, quando tratados com eCG no período pós parto precoce (entre 30 e 60 dias). No entanto, o efeito positivo da eCG em animais com escore de condição corporal satisfatório ($\geq 3,0$) desapareceu conforme aumentou a distância do parto (Figura 5). Os dados são indicativos de que quando o tratamento de sincronização da ovulação para IATF é realizado antes de 60 dias pós-parto sugere-se a utilização de eCG em todos os animais, independentemente da condição corporal.

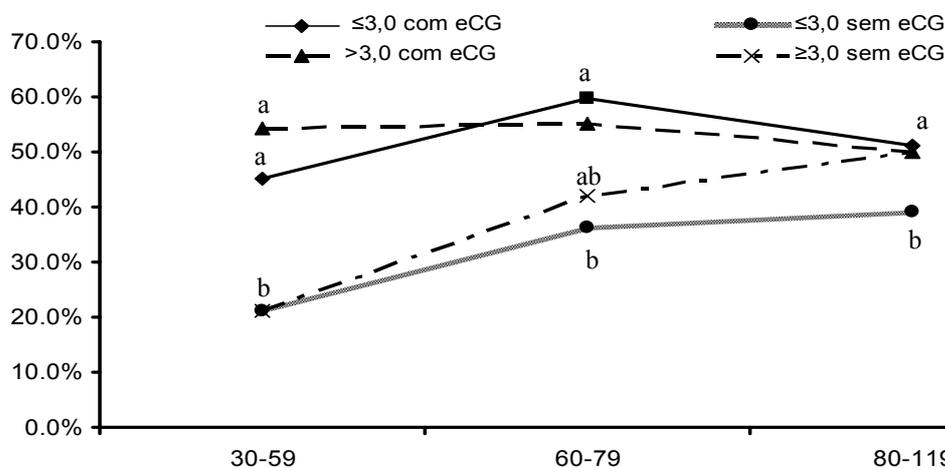


Figura 5. Distribuição da taxa de concepção conforme o período pós-parto, o escore de condição corporal e o tratamento com eCG em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo (n=617).

Com finalidade de avaliar a possibilidade de se obter satisfatórias taxas de concepção em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo no pós-parto precoce (40 a 60 dias), foram inseminadas em tempo fixo 2489 vacas Nelore em diferentes períodos pós-parto (Penteado et al. (2006). Verificaram-se semelhantes taxas de concepção, independentemente do período pós-parto no qual foi realizada a IATF (Figura 6). É importante ressaltar que todos os animais foram tratados com eCG na retirada do implante. Esses dados indicam que é possível realizar a IATF precocemente no período pós parto, associando o emprego da inseminação artificial como ferramenta de melhoramento genético com elevados índices de fertilidade dos rebanhos que empregam essa biotecnologia.

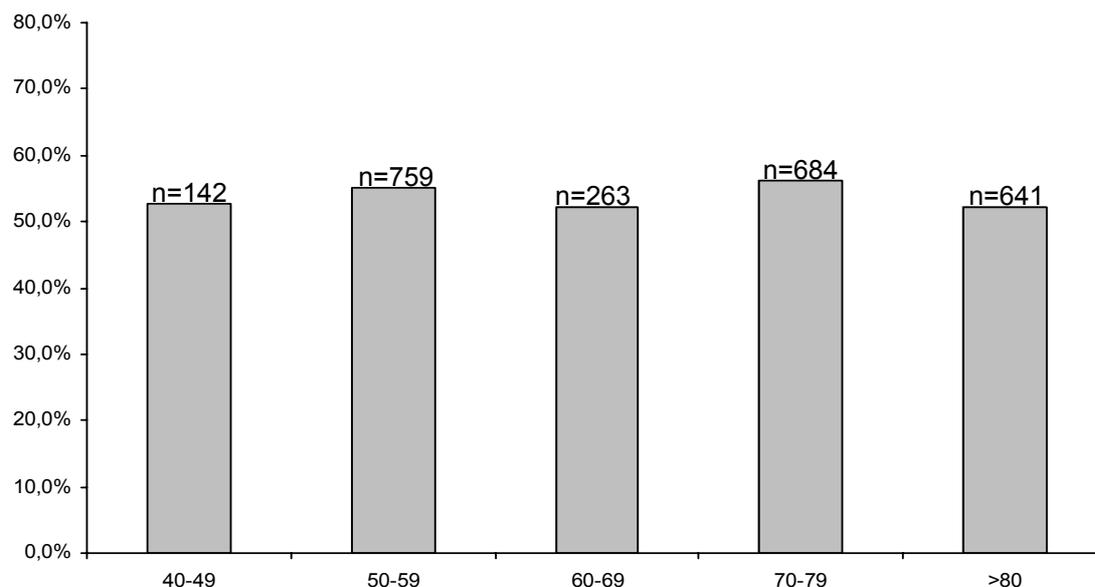


Figura 6. Distribuição da taxa de concepção conforme o período pós-parto (2489 inseminações) em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo.

Os trabalhos científicos apresentados são indicativos de que é possível sincronizar eficientemente o crescimento folicular e a ovulação para a IATF durante o período pós-parto. O tratamento com BE associado a um dispositivo de progesterona e ou progestágeno sincroniza a emergência da onda de crescimento folicular 3 a 4 dias após o tratamento. Os folículos crescem sob ação do FSH e, após a divergência, na presença de concentrações adequadas de LH atingem diâmetros compatíveis com altas taxas de ovulação. No entanto, em vacas em anestro, devido à baixa pulsatilidade de LH verifica-se comprometimento no crescimento folicular e baixa taxa de ovulação ao final do protocolo de sincronização com dispositivos de progesterona e ou progestágenos. Nessa condição, o tratamento com eCG proporciona suporte gonadotrófico para impedir a atresia do folículo dominante e estimular o crescimento folicular e promover a ovulação. Assim, o efeito positivo do tratamento com eCG em protocolos de IATF é dependente do grau de ciclicidade do rebanho. Vacas em anestro necessitam de eCG para estimular o crescimento folicular e criar condições de ovulação ao final do protocolo. No entanto, vacas ciclando (com liberação adequada de LH), apresentam condições fisiológicas para responder com altas taxas de ovulação ao final do tratamento de sincronização sem a necessidade do tratamento com eCG.

6. Superovulação de doadoras de embrião com eCG

6.1 Fatores que afetam a resposta superovulatória em bovinos

A variabilidade na resposta das doadoras ao tratamento superestimulatório com gonadotrofinas continua sendo um dos maiores problemas nos programas comerciais de TE (Mapletoft et al., 2002, Barros e Nogueira, 2004; Baruselli et al., 2006). Esta variação individual ao tratamento superovulatório foi relatada tanto em vacas Nelore (*Bos indicus*; Baruselli et al. 2003), quanto em vacas Holandesas de alta produção (*Bos taurus*; Martins, 2005).

No protocolo tradicional de superovulação (SOV), o tratamento com gonadotrofinas é iniciado na metade do ciclo estral (8-12 dias após ovulação). Esta metodologia apresenta algumas dificuldades por requerer a detecção do “estro base” para o início do tratamento superestimulatório (Mapletoft et al., 2002).

A ausência do folículo dominante e a realização da superovulação no início da onda de crescimento folicular aumentam a eficiência dos programas de SOV (Mapletoft et al., 2002). Sendo assim, alternativas para o controle da emergência da onda de crescimento folicular em momentos aleatórios do ciclo estral, sem a necessidade de detecção do estro para o estabelecimento do “estro base” podem facilitar o manejo

de doadoras tanto *Bos taurus* quanto *Bos indicus*, bem como aumentar a eficiência dos programas de transferência de embriões (Baruselli et al, 2006; Bo et al., 2006).

6.2 Controle da dinâmica folicular para a superovulação em bovinos

O tratamento eletivo para a indução da emergência da nova onda de crescimento folicular é feito com a associação de estradiol (E2) e progesterona (P4). A eficiência desta associação tem sido descrita em diversos trabalhos em fêmeas *Bos taurus* (Bó et al., 1991; Bó et al., 1995; Colazo et al., 2003). Nosso grupo de pesquisa tem estudado o efeito do tratamento com estradiol e progesterona na emergência da onda folicular em *Bos indicus*, *Bos taurus x Bos indicus* e *Bos taurus* mantidas nas mesmas condições de manejo (Carvalho et al., 2008). Não foi observada diferença no intervalo entre o tratamento com benzoato de estradiol e a emergência folicular entre *Bos indicus*, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus* (3 a 4 dias).

6.3 Uso da eCG para superestimulação

Estudamos a hipótese de que é possível obter resultados satisfatórios quando do emprego de eCG para superovulação, associado ao protocolo de sincronização da onda de crescimento folicular e da ovulação em doadoras Nelore e Holandesas. Um total de 12 doadoras Nelore (Martins et al., 2006) foi dividido em três grupos: eCG-2500UI; eCG-2000UI e FSH-100mg (*cross-over*; 36 superovulações). Os animais receberam um dispositivo de P4 associado a 2 mg de BE no Dia 0. Nos tratamentos com eCG (Novormon[®]), a superestimulação foi realizada com a administração única de 2500 ou 2000 UI de eCG no Dia 4. No tratamento com FSH, administrou-se 100mg de Folltropin-V[®] em 8 doses decrescentes de 12/12 horas, a partir do Dia 4. No Dia 6, administrou-se PGF. Os dispositivos foram retirados 36 horas após a administração de PGF2 α , e o LH aplicado 48 horas após a PGF2 α (Dia 8 M). Foi realizada uma única inseminação 16 horas após o tratamento com LH. A colheita dos embriões foi realizada no Dia 15. Não foram observadas interações, sendo os efeitos dos tratamentos eCG-2500UI; eCG-2000UI e FSH-100mg, apresentados na Tabela 7 O tratamento com 2000UI de eCG produziu número semelhante de embriões transferíveis comparado ao grupo tratado com FSH.

Tabela 7. Efeito do tratamento superovulatório com diferentes doses de eCG na eficiência de programas de TE com inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore (*Bos indicus*), Poços de Caldas, 2006.

| VARIÁVEIS | FSH (100mg) | eCG (2000 UI) | eCG (2500 UI) | Valor P (Teste F) |
|------------------------|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|
| Nº de animais | 12 | 12 | 12 | |
| Nº de fol.>8mm (LH) | 11,2 \pm 2,7b | 18,4 \pm 2,9ab | 24,4 \pm 3,9a | 0,01 |
| Taxa de ovulação (%) | 65,9 (89/135)a | 58,4 (129/221)a | 33,1 (97/293)b | <0,001 |
| Nº de CL (D15) | 7,4 \pm 1,5 | 9,1 \pm 1,5 | 8,1 \pm 1,1 | 0,68 |
| Nº de fol.>8mm (D15) | 3,6 \pm 0,8b | 7,7 \pm 1,4ab | 16,3 \pm 4,3a | <0,01 |
| Taxa recuperação | 77,5 (69/89) | 70,5 (91/129) | 73,2 (71/97) | 0,93 |
| Total estruturas | 5,7 \pm 1,4 | 7,6 \pm 1,0 | 5,9 \pm 1,0 | 0,50 |
| Embrião grau 1 | 3,5 \pm 0,7 | 5,8 \pm 0,9 | 3,4 \pm 0,7 | 0,06 |
| Embrião grau 2 | 0,7 \pm 0,3 | 0,9 \pm 0,2 | 0,4 \pm 0,1 | 0,31 |
| Embrião grau 3 | 0,4 \pm 0,2 | 0,2 \pm 0,1 | 0,6 \pm 0,2 | 0,37 |
| Embr. Degenerados | 0,4 \pm 0,2 | 0,0 \pm 0,00 | 0,4 \pm 0,2 | 0,16 |
| Embr. não fertilizados | 0,4 \pm 0,2 | 0,0 \pm 0,0 | 0,3 \pm 0,1 | 0,19 |
| Embr. Transferíveis | 4,6 \pm 0,9 | 6,9 \pm 1,0 | 4,4 \pm 0,7 | 0,08 |
| Embr. Congeláveis | 4,2 \pm 0,8ab | 6,7 \pm 1,0a | 3,8 \pm 0,7b | 0,03 |

Realizamos outro tratamento para verificar a possibilidade de superovular doadoras Nelore com 1.500UI de eCG (Martins et al., 2007). Empregou-se o mesmo delineamento experimental do experimento anterior (*cross-over*; 36 superovulações), diferindo apenas na dose para superovulação: eCG-1500UI, eCG-2000UI e FSH-133mg. Os resultados estão apresentados na Tabela 8. O tratamento com 1500UI de eCG apresentou melhor produção de embriões. Entretanto, a dose de 2000UI de eCG apresentou novamente a mesma eficiência que os animais superovulados com FSH, mostrando ser uma alternativa viável para programas de TE com inseminação artificial em tempo fixo em zebuínos, com vantagens significativas quanto ao manejo das doadoras.

Tabela 8. Efeito do tratamento superovulatório com diferentes doses de eCG na eficiência de programas de TE com inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore (*Bos indicus*), Poços de Caldas, 2007.

| | 133mg FSH) | 1500UI eCG | 2000UI eCG | P |
|---------------------------|-------------|-------------|-------------|-------|
| Número de animais | 12 | 12 | 12 | |
| Total estruturas | 8,67 ±1,29 | 4,75 ±1,04 | 7,67 ±0,98 | 0,001 |
| Embriões viáveis | 7,42±1,11 | 3,08±0,61 | 6,67±1,08 | 0,003 |
| Embriões degenerados | 0,75 ±0,35 | 0,50 ± 0,23 | 0,42 ±0,19 | 0,99 |
| Estruturas não fecundadas | 0,50 ± 0,15 | 1,17 ± 0,50 | 0,58 ± 0,36 | 0,97 |
| Embriões congeláveis | 6,50±1,19 | 2,83±0,53 | 6,33±1,09 | 0,009 |

Em experimento recente (revisado por Baruselli et al., 2008), avaliamos o efeito da eCG na resposta superovulatória em doadoras Holandesas (*Bos taurus*). Um total de 12 vacas foi dividido em três grupos de acordo com o tratamento superestimulatório: 200mg FSH, 2000UI eCG e 2500UI eCG. Utilizou-se o mesmo delineamento experimental do estudo anterior em doadoras Nelore (*cross-over*; 36 superovulações). Os resultados estão apresentados na Tabela 9. Apesar do grupo 2000UI eCG apresentar menor número de corpos lúteos que o grupo 200mg FSH, não foi observado diferença estatística na produção de embriões entre os tratamentos, indicando que é possível também superovular doadoras Holandesas com dose única de eCG.

Tabela 9. Efeito da eCG (2000UI e 2500UI) na resposta superovulatória de vacas Holandesas (*Bos taurus*) inseminadas em tempo fixo, Poços de Caldas-MG (Martins et al., 2008).

| | 200mg FSH | 2000UI eCG | 2500UI eCG | P |
|-----------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|------|
| Número de animais | 12 | 12 | 12 | |
| Nº de CLs no D15 | 13,42±1,26 ^a | 9,91±1,29 ^b | 12,3±1,18 ^{ab} | 0,04 |
| Total de estruturas | 9,58±1,21 | 7,67±0,98 | 10,41±0,82 | 0,10 |
| Emb. Transferíveis | 7,92±1,05 | 6,67±1,07 | 8,08±0,74 | 0,35 |
| Emb. Congeláveis | 7,00±1,06 | 6,33±1,09 | 6,75±0,51 | 0,57 |
| Emb. não fertilizados | 0,75±0,13 | 0,58±0,36 | 0,25±0,18 | 0,77 |
| Emb. Degenerados | 0,91±0,34 | 0,42±0,19 | 2,08±0,67 | 0,56 |

Para avaliar a eficiência de sucessivos tratamentos com eCG na produção de embriões, realizamos um experimento com 10 doadoras Nelore superovuladas por 4 vezes consecutivas, com intervalos de 35 dias (Martins et al., 2008). O grupo controle (n=10) foi superovulado simultaneamente com FSH. Verificou-se que até o terceiro tratamento superovulatório as vacas do grupo eCG produziram quantidades semelhantes de embriões em relação à primeira superovulação comparadas as vacas do Grupo FSH. No entanto, a partir do quarto tratamento superovulatório o grupo eCG produziu reduzidas quantidades de embriões transferíveis. Devido à significativa redução na produção de embriões a partir do quarto tratamento com eCG, as doadoras desse grupo foram superovuladas pela quinta vez com FSH. Verificou-se que as doadoras voltaram a produzir semelhantes quantidades de embriões comparadas ao grupo controle. Os resultados estão apresentados na Figura 7. Esses dados são sugestivos de que é possível superovular

doadoras com eCG por 3 vezes consecutivas. A partir da quarta superovulação, os animais deveriam ser superovulados com FSH. Novos trabalhos devem ser conduzidos para verificar o duração do efeito negativo da superovulação contínua com eCG.

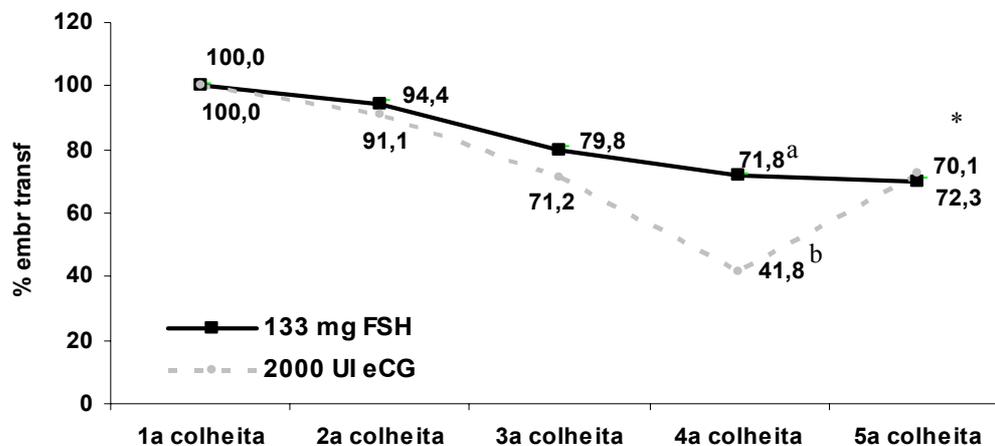


Figura 7. Percentual do número de embriões transferíveis (grau 1, 2 e 3) em relação à primeira colheita em doadoras Nelore (*Bos indicus*) superovuladas por 4 vezes (intervalo de 35 dias) com FSH (n=10) ou com eCG (n=10) e inseminadas em tempo fixo.*No quinto tratamento superovulatório todos animais foram superovulados com FSH.

Os resultados das pesquisas apresentadas são indicativos de que é possível utilizar eCG para superovular doadoras *Bos indicus* e *Bos taurus*.

7. Programas de inovulação de embriões em tempo fixo

Alguns investigadores demonstraram que as taxas de aproveitamento são maiores em receptoras submetidas a protocolos de TE em tempo fixo do que naquelas tratadas com uma ou duas administrações de PGF2 α com posterior detecção de estro (Baruselli et al., 2000b, 2000c e 2001; Tríbulo et al., 2000; Bó et al., 2002). Como as taxas de concepção de tais protocolos são similares àquelas obtidas em receptoras tratadas exclusivamente com PGF2 α , resulta em aumento das taxas de prenhez dos programas de TE em tempo fixo, além da vantagem de possibilitarem a programação do dia da inovulação e de evitarem o trabalho com a detecção de estro.

7.1 Uso da eCG na formação do CL e na produção de progesterona em receptoras cruzadas *Bos taurus* x *Bos indicus*

A relação entre a taxa de concepção, a concentração plasmática de progesterona e o tamanho do CL em receptoras de embrião bovino é objeto de controvérsias entre os estudiosos. Vários pesquisadores têm verificado correlação positiva entre tais variáveis. De acordo com Vasconcelos et al. (2001), quanto maior o volume do corpo lúteo, maior será a concentração de progesterona, e, conseqüentemente, maior taxa de concepção será obtida em vacas inseminadas em tempo fixo. Esses achados concordam com experimento realizado por nosso grupo (Baruselli et al., 2000c), no qual se verificou que a área do CL está associada à concentração plasmática de progesterona e à taxa de concepção de receptoras *Bos indicus* x *Bos taurus* (Tabela 10).

Tabela 10. Concentração de progesterona e taxa de concepção conforme a área do corpo lúteo no dia 6 do ciclo estral em receptoras de embrião bovino (*Bos indicus* x *Bos taurus*).

| Área do CL (ultra-sonografia) | Número de receptoras | Concentração de P4 (ng/ml) | Área média (cm ²) | Taxa de concepção (%) |
|----------------------------------|----------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| CL1 (> 2,0 cm ²) | 77 | 2,44 ± 0,86 ^a | 2,66 ± 0,51 | 58,4 (47/77) ^d |
| CL2 (1,5 a 2,0 cm ²) | 41 | 1,75 ± 0,69 ^b | 1,74 ± 0,10 | 41,5 (17/41) ^e |
| CL3 (< 1,5 cm ²) | 22 | 0,96 ± 0,56 ^c | 1,19 ± 0,20 | 31,8 (7/22) ^e |

(a ≠ b ≠ c; P < 0,01 e d ≠ e; P < 0,05).

Outros trabalhos confirmaram a relação entre a concentração plasmática de progesterona e a taxa de concepção (Reis et al., 2004; Figura 8). Os dados são indicativos de que receptoras com menores concentrações de progesterona do dia da transferência apresentam menores taxas de concepção. No entanto, aparentemente, o efeito positivo da progesterona se verifica somente até determinadas concentrações. O aumento das concentrações plasmáticas de progesterona no diestro foi correlacionado com o crescimento embrionário, pelo maior aporte de nutrientes para o lúmen uterino (Binelli et al., 2001; Geisert et al., 1992), e com sua capacidade de secretar interferon- τ (Mann et al., 1999; Kerbler et al., 1996; Mann e Lamming, 2001). A secreção de interferon- τ está correlacionada à diminuição da secreção de PGF_{2 α} pelo endométrio uterino e bloqueio da luteólise (Mann et al., 1995, 1999; Wathes et al., 1998). Esse fenômeno foi associado ao aumento das taxas de concepção em bovinos (MacMillan et al., 1994; Baruselli et al., 2000c). No entanto, alguns pesquisadores não observaram esse efeito (Nogueira et al., 2004; Spell, et al., 2001).

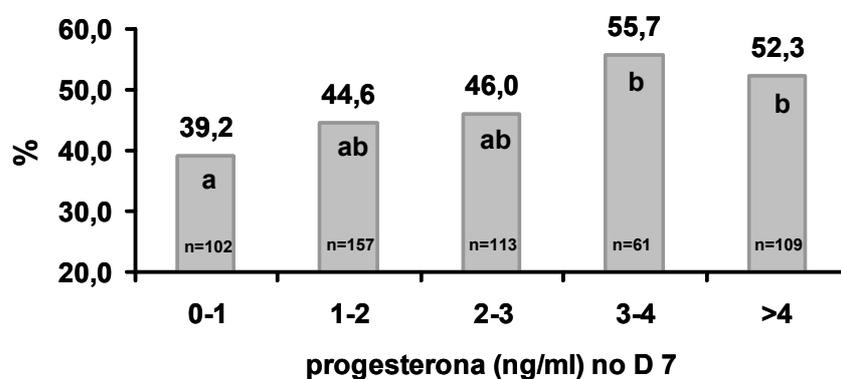


Figura 8. Taxa de concepção de receptoras de embrião bovino de acordo com a concentração plasmática de progesterona no dia da transferência (Dia 7; n=542; Reis et al., 2004).

Em outra investigação por nós realizada com o objetivo de tratar as receptoras com eCG no início da onda de crescimento folicular para a inovulação de embriões em tempo fixo (Baruselli et al., 2000c e 2001), verificou-se relação positiva entre o número de corpos lúteos, a concentração plasmática de progesterona e a taxa de concepção após a transferência de embriões congelados em etileno-glicol. Nesse estudo, foram utilizadas novilhas mestiças *Bos taurus* x *Bos indicus* (Tabelas 11e 12).

Tabela 11. Número médio de CL, concentração plasmática de progesterona (P4) e taxas de prenhez em receptoras *Bos taurus x Bos indicus* tratadas com dispositivos CIDR-B + Estradiol/progesterona no Dia 0, com ou sem 800 UI de eCG no Dia 5 e inovuladas em tempo fixo.

| Grupo | n | Nº CL | P4 (ng/ml) | Taxa de aprov (%) | Taxa Conc (%) | Taxa Prenhez (%) |
|----------|----|----------------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Controle | 50 | 0,5±0,5 ^a | 1,3±0,8 ^a | 17/50 (34,0) ^a | 5/17 (29,4) ^c | 5/50 (10,0) ^a |
| eCG | 50 | 2,6±2,9 ^b | 4,2±3,7 ^b | 42/50 (84,0) ^b | 21/38 (55,3) ^d | 21/50 (42,0) ^b |

^{ab}Médias ou porcentagens nas colunas com diferentes sobrescritos diferem significativamente (P<0,05).

^{cd}Médias ou porcentagens nas colunas com diferentes sobrescritos diferem (P=0,07)

Tabela 12. Área do CL, concentração plasmática de progesterona e taxa de concepção de receptoras de embrião portadoras de corpo lúteo único tratadas ou não com eCG.

| CL Único | n | Área (cm ²) | Concentração de P4 (ng/mL) | Taxa de Concepção (%) |
|----------|----|--------------------------|----------------------------|-----------------------|
| Controle | 17 | 2,15 ± 0,46 ^a | 1,35 ± 0,78 | 29,4 (5/17) |
| eCG | 8 | 2,86 ± 0,63 ^b | 2,30 ± 1,60 | 50,0 (4/8) |

(a ≠ b na mesma coluna; P < 0,05)

Assim, o tratamento com eCG no momento esperado da emergência da nova onda de crescimento folicular foi eficaz para superestimular o crescimento folicular e o desenvolvimento de um único folículo dominante de maior diâmetro e determinou, além de maior número de corpos lúteos (ou corpo lúteo único maior), maior concentração plasmática de progesterona e maiores taxas de aproveitamento, concepção e prenhez. Em outros estudos pôde-se também evidenciar o efeito da eCG no aumento das concentrações plasmáticas de progesterona no diestro após a ovulação sincronizada (Tabela 5 e Figura 3).

Bó et al. (2002) avaliaram um protocolo semelhante, e verificaram que a utilização de 400UI de eCG no momento da emergência da onda de crescimento folicular determinou apenas 2% de dupla ovulação em receptoras cruzadas. No entanto, esse tratamento formou corpos lúteos únicos maiores e incrementou a taxa de concepção e de prenhez (Tabela 13).

Tabela 13. Diâmetro do CL e taxa de prenhez em receptoras tratadas com dispositivos de P4 + estradiol/progesterona no Dia 0, com ou sem 400UI de eCG administrados no Dia 5 e inovuladas em tempo fixo.

| Grupo | N | CL ^a (mm) | Transferidas/Tratadas (%) | Prenhes/Transferidas (%) | Prenhes/tratadas (%) |
|----------|-----|-------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Controle | 156 | 17,7 ± 0,4 ^b | 127/156 (81,4%) ^b | 53/127 (41,7%) ^b | 53/156 (33,9%) ^b |
| eCG | 156 | 18,5 ± 0,4 ^c | 132/156 (84,6%) ^b | 76/132 (57,6%) ^c | 76/156 (48,7%) ^c |

^a Diâmetro do CL aferido por ultra-sonografia em receptoras transferidas (CL ≥ 10 mm).

^{bc} Médias ou porcentagens nas colunas com diferentes sobrescritos diferem significativamente (P<0,02).

Na seqüência dos experimentos, Reis (2004a) comparou diferentes doses de eCG (400 vs 500 vs 600 UI) administradas no protocolo de transferência de embriões em tempo fixo. Foram utilizadas 600 receptoras nulíparas *Bos taurus indicus x Bos taurus taurus* mantidas a pasto no Brasil Central. Os resultados estão demonstrados na Tabela 14. Não foi verificado efeito da dose de eCG sobre a eficiência dos protocolos empregados, indicando que a dose de 400UI de eCG é suficiente para obtenção de resultados satisfatórios em receptoras de embrião tratadas com o protocolo para TETF.

Tabela 14. Número de CL, taxas de aproveitamento, de concepção, de prenhez de embriões PIV em receptoras tratadas com diferentes doses de eCG (Novormon®) no protocolo de TETF. Fazenda Sonho Real, Campo Grande - MS, 2004.

| Dose | Dia | N | Taxa de aproveitamento (%) | Taxa de concepção (%) | Taxa de prenhez (%) | N CL |
|------|-----|-----|----------------------------|-----------------------|---------------------|--------------------------|
| 400 | | 201 | 82,1(165/201) | 51,8 (85/164) | 42,3 (85/201) | 1,17 ± 0,03 ^b |
| 500 | | 197 | 83,8 (165/197) | 44,1 (71/161) | 36,0 (71/197) | 1,33 ± 0,06 ^b |
| 600 | | 196 | 87,2 (171/196) | 49,4 (84/170) | 42,9 (84/196) | 1,82 ± 0,12 ^a |

As médias ou proporções nas colunas com letras sobrescritas diferentes apresentam diferença estatística (a,b P<0,05; x,y P<0,1)

8. Conclusão

Os trabalhos de pesquisa apresentados são indicativos da importância do emprego da eCG para aumentar a eficiência dos protocolos de sincronização para inseminação artificial, superovulação e transferência de embriões em tempo fixo. Para utilização correta desse fármaco, cabe ao técnico responsável analisar as condições fisiológicas do rebanho para tomada de decisão.

9. Referências bibliográficas

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA (ANUALPEC), 2004.

AYRES, H.; MARQUES, M. O.; SILVA, R. C. P.; RODRIGUES, C.A.; FERREIRA, R. M.; BARUSELLI, P. S. Influência do uso de eCG em diferentes períodos pós parto e do escore de condição corporal na taxa de prenhez de vacas nelore inseminadas em tempo fixo. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2007. (submetido para publicação).

BARROS, C.M.,; NOGUEIRA, M.F.G. Superovulação em zebuínos de corte. In: 1o. Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Londrina, p. 212-222, 2004.

BARUSELLI, P. S. ; MADUREIRA, E. H. ; MARQUES, M.O.; RODRIGUES, C.A.; NASSER, L. F.T. ; SILVA, R.C P ; REIS, E.L.; SÁ FILHO, M.F. Efeito do tratamento com eCG na taxa de concepção de vacas Nelore com diferentes escores de condição corporal inseminadas em tempo fixo (Análise retrospectiva). In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2004, Barra Bonita. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2004aa. v. 32. p. 228.

BARUSELLI, P. S., MARQUES, M. O.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W.P.; GRANDINETTI, R. R.; BO, G. A. Increased pregnancy rates in embryo recipients treated with CIDR-B devices. *Theriogenology*, v. 55, p. 355, 2001 (abst.).

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 26, n. 3, p. 218-221, 2002.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; VALENTIM, R.; BERBER, R. C. A.; CARVALHO FILHO, A. F.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P. Dinâmica folicular em novilhas receptoras de embrião bovino submetidas à sincronização da ovulação para inovulação em tempo fixo. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*, v. 28, p. 217, 2000a.

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; VALENTIM, R.; BERBER, R. C. A.; CARVALHO FILHO, A. F.; MADUREIRA, E. H.; COSTA NETO, W. P. Aumento da taxa de prenhez

- em receptoras de embrião bovino pela utilização do protocolo “Oovsynch” com inovação em tempo fixo. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, v. 28, p. 216, 2000b.
- BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; REIS, E. L.; MELLO, J. E.; CAMPOS FILHO, E.P. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas *Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus* durante o período pós-parto. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal, 5., Proceedings, v.1, p.380, 2003.
- BARUSELLI, P. S.; MARTINS, C.M.; SALES, J.N.S.; FERREIRA, R.M. Novos avanços na superovulação de bovinos. *Acta Scientiae Veterinariae*. v. 36-SUP. p. 433-448, 2008.
- BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BO, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. *Animal Reproduction Science*, v.82-83, p.479-486, 2004.
- BARUSELLI, P. S.; SÁ FILHO, M. F.; MARTINS, C. M.; NASSER, L. F. T.; NOGUEIRA, M. F. G.; BARROS, C. M.; BO, G.A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle *Theriogenology*, v.65, p.77-88, 2006b.
- BARUSELLI, P.S., REIS, E.L., CARVALHO, N.A.T., CARVALHO, J.B.P. eCG increases ovulation rate and plasmatic progesterone concentration in Nelore (*Bos indicus*) heifers treated with progesterone releasing device. In: Proceedings of the XIV International Congress on Animal Reproduction, vol. 1, Porto Seguro, BA, p. 117, 2004b.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; COSTA NETO, W.P.; GRANDINETTI, R.R. Superestimulação ovariana de receptoras de embriões bovinos visando o aumento de corpos lúteos, concentração de P4 e taxa de prenhez. Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS, v. 28, p. 218, 2000c.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; NASSER, L.F.T.; SILVA, R.C.P; MENEGATTI, J.A.; VALENTIN, R.; SANTOS, I.C.C. Adequação da dose de FSH (Folltropin-v) em protocolos de superovulação de vacas Nelore (*Bos indicus*) com inseminação artificial em tempo fixo (SOTF). *Acta Scientiae Veterinariae*, v.31, p.244-245, 2003.
- BINELLI, M.; THATCHER, W.W.; MATTOS, R.; BARUSELLI, P. S. Antiluteolytic strategies to improve fertility in cattle. *Theriogenology*, v.56, p.1451-1463, 2001.
- BO, G. A. ; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M. F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. *Animal Reproduction Science*, v.78, p.307-326, 2003.
- BO, G. A.; ADAMS, G. P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R. A.; MAPLETOFT, R. J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and estradiol in cattle. *Animal Reproduction Science*, v.39, p.193-204, 1995.
- BÓ, G. A.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R. J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro Mate B implants. *Theriogenology*, v. 36, n. 2, p. 169-183, 1991.
- BO, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MORENO, D.; CUTAIA, L.; CACCIA, M.; TRÍBULO, R.; TRÍBULO, H.; MAPLETOFT, R.J. The control of follicular wave development for self-pointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology*, v. 57, p. 53-72, 2002
- BÓ, G.A; BARUSELLI, P.S. ; CHESTA, P.M ; MARTINS, C.M. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. *Theriogenology*, v.65, p.89-101, 2006.

CARVALHO, J. B. P.; CARVALHO, N. A. T.; REIS, E. L.; NICHI, M.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P. S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. *Theriogenology*, v.69, p.167-175, 2008.

CASTILHO, C.; GARCIA, J. M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G. P.; BRITO, L. F. C. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. *Animal Reproduction Science*, v.98, p.189-96, 2006.

COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. *Theriogenology*, v.60, p.855-865, 2003.

CUTAIA L, MORENO D, VILLATA ML, BÓ GA. Synchrony of ovulation in beef cows treated with progesterone vaginal devices and estradiol benzoate administered at device removal or 24 hours later. *Theriogenology*, v. 55, p. 408, abstr., 2001.

CUTAIA, L.; TRÍBULO, R.; MORENO, D.; BÓ, G.A.. Pregnancy rates in lactating beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol benzoate and equine chorionic gonadotropin (eCG). *Theriogenology* 59, p. 216, 2003 (IETS).

D'OCCHIO, M.J.; NEISH, A.; BROADHURST, L. Differences in gonadotrophin secretion post-partum between zebu and European breed cattle. *Animal Reproduction Science.*, v. 22, p. 311-317, 1990.

GEISERT, R.D.; MORGAN, G.L.; SHORT, E.C.; ZAVY, M.T. Endocrine events associated with endometrial function and conceptus development in cattle. *Reproduction Fertility and Development*, 4:301-305, 1992.

GIMENES LU, SÁ FILHO MF, MADUREIRA EH, TRINCA LA, BARROS CM, BARUSELLI PS. Estudo ultra-sonográfico da divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, supl.1, p.210, 2005b [Resumo].

HASLER JF. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 56: 1401-1415, 2001.

KERBLER, T.L.; BUHR, M.M.; JORDAN, L.T.; LESLIE, K.E.; WALTON, J.S. Relationship maternal plasma progesterone concentration and interferon tau synthesis by the conceptus in cattle. *Theriogenology* 47: 703-714, 1996.

MACMILLAN KL, PETERSON AJ. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Animal Reproduction Science*. V. 33, p. 1-25, 1993.

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

MANN, G.E.; LAMMING, G.E; FRAY, M.D. Plasma oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. *Animal Reproduction Science* 37: 121-131, 1995.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. The regulatory of interferon- τ production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Journal Reproduction and Fertility* 54: 317-328, 1999.

MAPLETOFT, R.J.; STEWARD, K.B.; ADAMS, G.P. Recent advances in the superovulation in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, v.42, p.601-11, 2002.

MARQUES, M.O; REIS, E.L.; MELLO, J.E.; CAMPOS FILHO, E P; BARUSELLI, P.S. Taxa de concepção de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore lactantes. 2004 .MARQUES MO, REIS EL, CAMPOS FILHO EP, BARUSELLI PS. Efeitos da administração de eCG e de Benzoato de Estradiol para sincronização da ovulação em vacas zebrúinas no período pós-parto. In: Proceedings 5º Simposio Internacional de Reproducción Animal, Córdoba, Argentina: pp. 392, 2003.

MARQUES, M.O.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; FIGUEIREDO, T B; SORIA, G F; BARUSELLI, P.S. Efeito do tratamento com PGF2a na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas nelore. In: Acta Scientiae Veterinariae, 2005, Angra dos Reis/RJ. Acta Scientiae Veterinariae. v. 1, p. 287-287, 2005.

MARQUES, M.O; REIS, E.L.; BARUSELLI, P.S. Taxa de concepção de vacas Nelore subentendas a protocolos com ou sem eCG com diferentes indutores de ovulação ((BE, hCG e GnRH). Appud in: BARUSELLI, P.S.; BÓ, G.A.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. In: Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 10., Londrina, 2004. **Anais**, p.155-165, 2004.

MARTINS, C. M. Adequação do protocolo de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo em *Bos taurus*. Tese de mestrado, 2005.

MARTINS, C. M.; OLIVEIRA, L. G.; CREPALDI, G.A.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. Efeito de diferentes doses de eCG na resposta superovulatória de doadoras Nelore (*bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. Acta. Sci. Vet., v.35, p.1237, 2007.

MARTINS, C. M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; SOUSA, M.G.; BARUSELLI, P.S. Superovulação com eCG ou FSH em doadoras Nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. Acta. Sci. Vet., v.34, p.227, 2006.

MARTINS, C.M.; SANTOS, I.C.C.; VALENTIM, R.; SALES, J.N.S.; REIS, P.O.; CREPALDI, G.A.; BARUSELLI, P.S.; D'OCCHIO, M.J. Efeito da redução do número de administrações de FSH na resposta superovulatória e na produção de embriões de doadoras nelore. Acta Sci Vet 2008, *in press*.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Disponível no site www.agricultura.gov.br. Acessado em 10 de maio de 2007.

MONTIEL, F.; AHUJA, C. Body condition and suckling as factors influencing the duration of postpartum anestrus in cattle: a review. Animal Reproduction Science, v.85, p.1-26, 2005.

MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotrophin. Endocrine Reviews, v. 12, p. 27-44, 1991.

NOGUEIRA, M.F.G.; MELO, D.S.; CARVALHO, L.M.; FUCK, E.J.; TRINCA, L.A.; BARROS, C.M. Do high progesterone concentrations in embryos recipients synchronized with PGF2 α and eCG? Theriogenology, 61: 1283-1290, 2004.

PENTEADO, L.; AYRES, H.; MADUREIRA, E. H. ; REIS, E.L.; BARUSELLI, P. S. . Efeito do eCG e do desmame temporário na taxa de prenhez de vacas Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2004, Barra Bonita. Acta Scientiae Veterinariae, 2004. v. 32. p. 223.

PENTEADO. L.; MARQUES, M. O.; SILVA, R. C. P.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; BARUSELLI, P.S. Taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo em diferentes períodos pós parto. Acta Scientiae Veterinariae, 2006. v. 34. p. 402[Resumo].

QUESADA, Y.; ESTRADA, S.; CUBERO, M.; GARCÍA, F.; GALINA, C.S.; MOLINA, R.; ORIHUELA, A. A note on the effects of calf stimuli on the response of Zebu cows to Synchro-mate-B. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 71, p. 183-189, 2001.

REIS, E.L. Adequação da dose e do momento da administração de eCG no protocolo de sincronização de receptoras de embrião bovino. (Tese de Mestrado, 2004a). Em vias de publicação.

REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T., NASSER, CL.F.; COSTA NETO, W.P.; BARUSELLI, P.S. Aumento da taxa de concepção em receptoras de embrião bovino com maiores concentrações plasmáticas de progesterona no dia da inovulação. *Acta Scientiae Veterinariae*, 32: 88, 2004.

RHODES, F.M.; DE'ATH, G.; ENTWISTLE, K. W. Animal and temporal effects on ovarian follicular dynamics in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science*, v.38, p.265-277, 1995.

RHODES, F.M.; MCDOUGALL, S.; BURKE, C. R.; VERKERK.; G. A.; MACMILLAN, K. L. Invited review: Treatment of cows with an extended postpartum anestrous interval. *Journal Dairy Science*, v.86, p.1876-1894, 2003.

RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; REIS, E.L. ; MADUREIRA, E. H. ; BARUSELLI, P. S. . Aumento da taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com uso de eCG em diferentes períodos pós-parto. In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2004, Barra Bonita. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2004. v. 32. p. 220.

RUIZ-CORTES, Z. T.; OLIVERA-ANGEL, M. Ovarian follicular dynamics in suckled zebu (*Bos indicus*) cows monitored by real time ultrasonography. *Animal Reproduction Science*, v.54, p.211-220, 1999.

SÁ FILHO, M.F. ; REIS, E.L. ; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H. ; BARUSELLI, P. S. . Dinâmica folicular de vacas Nelore lactantes em anestro tratadas com progestágeno, eCG e GnRH. In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2004, Barra Bonita. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2004. v. 32. p. 235.

SÁ FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L.; GIMENES, L.U.; BARUSELLI, P. S. Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular na taxa de concepção de novilhas nelore tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol. In: *Acta Scientiae Veterinariae*, 2005, Angra dso Reis/RJ. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2005. v. 1. p. 265-265.

SARTORELLI ES, CARVALHO LM, BERGFELT DR, GINTHER OJ, BARROS CM. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. *Theriogenology*, v.63, p.2382-2394, 2005.

SARTORI, R.; FRICKE, P. M.; FERREIRA, J. C. P.; GINTHER, O. J.; WILTBANK, M. C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biologic Reproduction*, v.65, p.1403-1409, 2001.

SARTORI, R.; ROSA, G. J.M.; WILTBANK, M. C. Ovarian structures and circulating steroids in heifers and lactating cows in summer and lactating cows and dry cows in winter. *J Dairy Sci*, 85:2813-2822, 2002.

SCHILLO, K. K. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *Journal Animal Science*, v.70, p.1271-1282, 1992.

SILVA, R.C P ; RODRIGUES, C.A. ; MARQUES, M. O. ; AYRES, H.; REIS, E.L. ; NICHI, M.; MADUREIRA, E. H. ; BARUSELLI, P. S. . Efeito do eCG e do GnRH na taxa de prenhez de vacas

Nelore lactantes inseminadas em tempo fixo. In: XVIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões, 2004, Barra Bonita. *Acta Scientiae Veterinariae*, 2004. v. 32. p. 221

SOUZA, A.H. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. São Paulo, 2008, 152 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

SOUZA, A.H.; MARTINS, C.M.; TORRES JUNIOR, J.R.S.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Efeito do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo em vacas holandesas de alta produção. In: I Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal, 2006, Pirassununga, SP. *Anais do 1º Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação do Departamento de Reprodução Animal*, 2006. v. 1.

SPELL, A.R.; BEAL, W.E.; CORAH, L. R.; LAMB, G. C. Evaluating recipients and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, 56: 287-297, 2001.

STEWART, F.; ALLEN, W.R. Biological functions and receptor binding activities of equine chorionic gonadotrophins. *Journal of Reproduction and Fertility*, v. 62, p. 527-36, 1981.

TRIBULO, H.; BO, G. A.; GATTI, G.; TEGLI, J. C.; CUTAIA, L.; MORENO, D.; BRITO, M.; TRIBULO, R. Pregnancy rates in embryo recipients treated with estradiol benzoate and CIDR-B vaginal devices to eliminate the need for estrus detection. 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, Sweden, 2000; 2:115 (abstr).

VASCONCELOS, J.L.M; SARTORI, R.; OLIVEIRA, H.N.; GUENTHER, J.G.; WILTBANK, M. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology*; v. 56, p. 307-314, 2001.

VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.35, p.915-924, 2007.

VISCARRA, J.A.; WETTERMANN, R.P.; SPITZER, J.C.; MORRISON, D.G. Body condition at parturition and postpartum weight gain influence luteal activity and concentrations of glucose, insulin and nonesterified fatty acids in plasma of primiparous beef cows. *J. Anim. Sci.* v. 76, p. 493-500, 1998.

WATHES, D.C.; ROBINSON, R.S.; MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The establishment of early pregnancy in cows. *Reproduction Domestic Animals* 33: 279-284, 1998.

WILLIAMS, G. L. Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *Journal Animal Science*, v.68, p.8331-852, 1990.

WILLIAMS, G. L.; GAZAL, O.S.; GUZMÁN VEGA, G. A.; STANKO, R. L. Mechanisms regulating suckling-mediated anovulation in the cow. *Animal Reproduction Science*, v.42, p.289-297, 1996.

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

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