

FABRÍCIO ALBANI OLIVEIRA

**HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSH-p) EM PROTOCOLO DE
SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO DE FÊMEAS DE BOVINOS
MISTIÇAS (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

O46h
2009

Oliveira, Fabrício Albani, 1984-

Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de fêmeas de bovinos mestiços (*Bos taurus indicus* X *Bos taurus taurus*) / Fabrício Albani Oliveira – Viçosa, MG, 2009.
xii, 51f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Reprodução animal. 2. Biotecnologia. 3. Bovino.
4. Felículo. 5. Hormônios. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 636.20824

FABRÍCIO ALBANI OLIVEIRA

**HORMÔNIO FOLÍCULO ESTIMULANTE (FSHp) EM PROTOCOLO DE
SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO DE FÊMEAS DE BOVINOS MISTIÇAS
(*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 10 de julho de 2009.

Prof. Eduardo Paulino da Costa
(Co-orientador)

Prof. Antônio Bento Mâncio
(Co-orientador)

Profª. Cristina Mattos Veloso

Dra. Elenice Andrade Moraes

Prof. Ciro Alexandre Alves Torres
(Orientador)

Aos meus pais, João Batista e Maria de Fátima, por todo amor e dedicação incondicionais, modelo de vida e incentivo, que me fortalece e me faz seguir em busca dos “nossos” sonhos.

Aos meus irmãos, Thiago, Phelipe e Thaís, pela amizade e pelo companheirismo.

Dedico

*"O valor das coisas não está no tempo em que elas duram,
mas na intensidade com que acontecem.
Por isso existem momentos inesquecíveis,
coisas inexplicáveis e pessoas incomparáveis."*

Fernando Pessoa

*"Bom mesmo é ir a luta com determinação,
abraçar a vida e viver com paixão,
perder com classe e vencer com ousadia,
porque o mundo pertence a quem se atreve
e a vida é muito para ser insignificante."*

Charles Chaplin

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela minha vida e por todas minhas realizações.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade da realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Ciro Alexandre Alves Torres, pela orientação, pela amizade e pelos conselhos fundamentais para realização deste trabalho.

Ao professor Eduardo Paulino da Costa, por ter sido o primeiro a acreditar em mim concedendo bolsa de iniciação científica, pela co-orientação e pelos ensinamentos dados.

Ao professor Antônio Bento Mâncio, pela co-orientação e pelos ensinamentos dados.

À professora Cristina Mattos Veloso, por fazer parte da banca examinadora.

À Dra. Elenice Andrade Moraes, por fazer parte da banca examinadora, pela amizade e por toda a ajuda prestada.

Aos demais professores responsáveis pela minha formação acadêmica, pelos ensinamentos e conselhos.

Ao amigo, Vinício, pela amizade, conselhos, paciência, pois sem a ajuda dele a execução do trabalho ficaria prejudicada.

À Marcia e ao Rodrigo por toda a ajuda prestada.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia e da fazenda, pela colaboração e pelo convívio.

Aos amigos e colegas de curso, Isis, Bruno, Joanna, Camila, Carol, Madriano, Pedro, Flavio, Jurandy, Bruna, Juliana, João, Marcos, Guilherme e a todos os moradores da Rep. Vaca Véia e Bacu Bacu, pela amizade, convivência e incentivo nas horas mais difíceis.

À TECNOPEC, pelo financiamento do material utilizado durante o experimento.

À todos que, direta e indiretamente, contribuíram para a elaboração desta dissertação.

BIOGRAFIA

FABRÍCIO ALBANI OLIVEIRA, filho de João Batista Galvêas Oliveira e Maria de Fátima Albani Oliveira, nasceu em Guaçuí, Espírito Santo, em 06 de maio de 1984.

Em março de 2003, ingressou na Universidade Federal de Viçosa, no curso de Medicina Veterinária, colando grau em 18 de janeiro de 2008.

Em março de 2008, iniciou o Programa de Pós-Graduação do Departamento de Zootecnia da UFV, em nível de Mestrado, na área de Fisiologia da Reprodução.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Sincronização de estro	5
2.2. Prostaglandina F _{2α}	5
2.3. Progestágenos	6
2.4. Estrógenos	7
2.5. Hormônio folículo estimulante.....	8
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de novilhas mestiças (<i>Bos taurus indicus</i> x <i>Bos taurus taurus</i>) púberes	15
Resumo	15
Abstract.....	16
1. Introdução.....	17
2. Material e Métodos.....	18
3. Resultados e Discussão.....	20
4. Conclusões.....	24
5. Referências Bibliográficas.....	24
Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (<i>Bos taurus indicus</i> x <i>Bos taurus taurus</i>) cíclicas e em anestro	28
Resumo	28

Abstract.....	29
1. Introdução.....	30
2. Material e Métodos.....	31
3. Resultados e Discussão.....	33
4. Conclusões.....	39
5. Referências Bibliográficas.....	39
4. CONCLUSÕES GERAIS	44
APÊNDICE	45

RESUMO

OLIVEIRA, Fabrício Albani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009.
Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de fêmeas de bovinos mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). Orientador: Ciro Alexandre Alves Torres. Co-orientadores: Eduardo Paulino da Costa e Antônio Bento Mâncio.

Objetivou-se avaliar a utilização do hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) quanto à dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas mestiças púberes e em vacas mestiças cíclicas e em anestro. No estudo com novilhas, foram utilizados 138 animais em experimentos com delineamento inteiramente casualizado. No experimento I, avaliou-se a dinâmica pelos protocolos: Tcontrole (n= 11 novilhas) – dia 0, inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (Primer[®]) mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]); dia 8, retirada do Primer[®] e aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α} (Prolise[®]); dia 9, foi aplicado (IM) 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10, a IA foi realizada entre 48 e 54 horas após a retirada do Primer[®]; TFSH (n= 11 novilhas) – similar ao Tcontrole, sendo que, no dia 8 administrou-se 15 mg de FSH-p (Folltropin[®]). Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0, 8, e no dia da IATF e até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante. No experimento II, avaliou-se a taxa de prenhez em protocolos similares, diferindo pelo número de animais: Tcontrole= 55 novilhas e TFSH= 61 novilhas. No estudo com vacas, utilizaram-se 220 fêmeas para avaliação da dinâmica folicular e taxa de prenhez em vacas mestiças cíclicas e em anestro distribuídas em dois experimentos similares ao estudo com novilhas. Em ambos experimentos, o delineamento foi fatorial 2x2 (protocolos de sincronização da ovulação e ciclicidade das vacas). No experimento I, avaliou-se a dinâmica pelos protocolos constituídos de vacas cíclicas (Tcíclicas, n=23), e em anestro

(Tanestro, n=22) e dois protocolos similares ao do experimento I das novilhas: 1) Tcontrole - 22 vacas; 2) TFSH - 23 vacas. Contudo, a distribuição estabelecida nas vacas foi: Tcíclicas+Tcontrole (n=11 vacas), Tanestro+Tcontrole (n=11 vacas), Tcíclicas+TFSH (n=12 vacas), Tanestro+TFSH (n=11 vacas). Os exames ultrassonográficos foram realizados em esquema similar ao experimento I das novilhas. No experimento II, a avaliação da taxa de prenhez das vacas foi por tratamentos similares ao experimento I, diferindo pelo número de animais: Tcíclicas+Tcontrole (n=28), Tanestro+Tcontrole (n=55), Tcíclicas+TFSH (n=29), Tanestro+TFSH (n=63). Todos os dados foram analisados no programa SAS versão 9.0 (2002), a 5% de probabilidade. No estudo com novilhas, não foi verificada diferença ($P>0,05$) na taxa de crescimento folicular, sendo de 1,21 e 1,93 mm/dia para as novilhas do Tcontrole e TFSH, respectivamente. Não houve ($P>0,05$) efeito do tratamento para diâmetro do maior folículo no dia 10, sendo de 9,47 e 10,27 mm nas fêmeas do Tcontrole e TFSH, respectivamente. A administração do FSH-p em protocolo de sincronização da ovulação não afetou a taxa de ovulação (81,82%, $P>0,05$). No entanto, as novilhas do TFSH apresentaram taxa de prenhez superior (50,82%) às do Tcontrole (30,91%; $P<0,05$). No estudo com vacas, não houve efeito ($P>0,05$) dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e da interação desses fatores para taxa de crescimento folicular ($1,08\pm 0,12$ mm/dia), intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação ($57,26\pm 0,78$ e $9,26\pm 0,78$ horas, respectivamente). Não houve interação ($P>0,05$) de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) para diâmetro do maior folículo ($10,15\pm 0,44$ mm). Não houve interação ($P>0,05$) dos efeitos principais para taxa de ovulação e prenhez e nem do efeito dos protocolos. As taxas de ovulação e de prenhez foram maiores ($P<0,05$) para as vacas cíclicas (91,39% e 54,39%), em relação às em anestro (63,64% e 24,58%). Conclui-se que a administração de FSH-p em protocolo de sincronização de ovulação, em novilhas e vacas mestiças, não apresentou diferenças marcantes nos padrões avaliados para dinâmica folicular, mas proporcionou eficiente incremento da taxa de prenhez das novilhas. As vacas cíclicas apresentaram taxa de prenhez satisfatória, independentemente da administração do FSH-p.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Fabrício Albani, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Hormone stimulating follicle (FSH-p) in the synchronization protocol of female bovine crossbreed (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) ovulation.** Advisor: Ciro Alexandre Alves Torres. Co-advisors: Eduardo Paulino da Costa and Antônio Bento Mâncio.

The aim was to evaluate the use of follicle stimulating hormone (FSH-p) in IATF protocols in the follicular dynamics and pregnancy rates in crossbred puberal heifers and in crossbred cyclic and anestrous cows. In the study with heifers, 138 animals were used in experiments with complete random design. In experiment I the dynamics were evaluated by the protocol: Tcontrol (n = 11 heifers) – day 0, insertion of intravaginal progesterone device (Primer®) plus the application (IM) of 2 mg of estradiol benzoate (Estrogin®); day 8, withdrawal of the Primer® and application, IM, of 0.150 mg of PGF_{2α} (Prolise®); day 9, (IM) 1 mg of estradiol benzoate was applied; day 10, the IA was carried out between 48 and 54 hours after the removal of the Primer; TFSH (n = 11 heifers) – similar to the Tcontrol, but on day 8, 15 mg of FSH-p (Folltropin®) was administered. The ultrasonography examinations were carried out on days 0, 8, and on the IATF day until the ovulation event determined by the absence of the dominant follicle. In experiment II the pregnancy rate in similar protocols was evaluated, differing in the number of animals: Tcontrol = 55 heifers and TFSH = 61 heifers. In the cow's study, 220 females were used for the evaluation of the follicular dynamics and pregnancy rate in crossbred cyclic and anestrous cows distributed in two experiments similar to the study with heifers. In both experiments, a factorial 2x2 design was used (synchronization protocols of the ovulation and cyclicity of the cows). In experiment I the dynamics were evaluated for the protocols consisting of cyclical cows (Tcyclic, n=23), and in anestrous (Tanestrous, n=22) and two protocols

similar to that of experiment I of the heifers: 1) Tcontrol - 22 cows; 2) TFSH - 23 cows. Nevertheless, the distribution established in the cows was: Tcyclic+Tcontrol (n=11 cows), Tanestrous+Tcontrol (n=11 cows), Tcyclic+TFSH (n=12 cows), Tanestrous+TFSH (n=11 cows). The ultrasonography examinations were carried out in a similar scheme to the experiment I of the heifers. In experiment II, the evaluation of the pregnancy rate of the cows was for treatments similar to experiment I, differing by the number of animals: Tcyclic+Tcontrol (n=28), Tanestrous+Tcontrol (n=55), Tcyclic+TFSH (n=29), Tanestrous+TFSH (n=63). All the data were analyzed by the SAS program version 9.0 (2002) to 5 % probability. In the study with heifers, no difference ($P > 0.05$) was detected for the follicular growth rate, being 1.21 and 1.93 mm / day for the heifers in the Tcontrol and TFSH, respectively. The diameter of the largest follicle was not affected ($P > 0.05$) by the treatment on day 10, being 10.27 and 9.47 mm in the TFSH and Tcontrol females, respectively. The ovulation rate was not affected ($P > 0.05$) by the FSH-p treatment in the ovulation synchronization protocol (81.82 %, $P > 0.05$). However, the TFSH heifers showed a pregnancy rate (50.82 %) superior ($P < 0.05$) to that of the Tcontrol (30.91 %). In the study with cows, there was no effect ($P > 0.05$) from the synchronization protocols, the cyclicity of the cows and the interaction among these factors in the follicular growth rate (1.08 ± 0.12 mm / day), and on the interval of the progesterone device removal and the IATF to the ovulation (57.26 ± 0.78 and 9.26 ± 0.78 hours, respectively). No interaction ($P > 0.05$) among the evaluated effects (treatment, cyclicity, day of observation) and the diameter of the largest follicle (10.15 ± 0.44 mm). There was no interaction ($P > 0.05$) from the main effects for the ovulation and pregnancy rates and not even an effect from the protocols. The ovulation and pregnancy rates were greater ($P < 0.05$) for the cyclic cows (91.39 % and 54.39 %), compared to those in anestrous (63.64 % and 24.58 %). It is concluded that the administration of FSH-p in an ovulation synchronization protocol in heifers and crossbred cows did not show differences in the patterns evaluated for follicular dynamics, but provided an efficient increase in the pregnancy rate in heifers. The cyclic cows showed a satisfactory pregnancy rate independent of the FSH-p administration.

1. INTRODUÇÃO

O anestro pós-parto é o período que vai do parto até a manifestação do primeiro estro fértil (Yavas & Walton, 2000), sendo influenciado pelo estado nutricional pré e pós-parto (Holness et al., 1978), involução uterina (El et al., 1995; Yavas & Walton, 2000), estímulo da mamada (Lamb et al., 1997) e pela produção leiteira (Bartlett et al., 1987). O prolongamento do período de anestro pós-parto ocasiona perdas econômicas na bovinocultura de corte, por aumentar o intervalo parto-concepção e, conseqüentemente, comprometer a eficiência reprodutiva com diminuição da produção de bezerros e do peso ao desmame por vaca.

O intervalo de partos ideal, para que se obtenha o máximo de eficiência reprodutiva de uma fêmea bovina, é de 12 meses, com intervalo parto-concepção próximo a 85 dias (Yavas & Walton, 2000). Com o intuito de aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos, devem ser empregadas estratégias para diminuir o período de anestro pós-parto, como o uso de tratamentos hormonais para indução de estro e ovulação (Fike et al., 1997), que podem estar associados, ou não, com desmame temporário dos bezerros. Os resultados variáveis de indução da ovulação em vacas em anestro estão em função do estado nutricional (Butler, 2003). Também, para diminuir o intervalo de gerações, ou seja, diminuir a idade ao primeiro parto, os tratamentos hormonais podem ser utilizados em novilhas.

A detecção do estro é o principal fator que influencia a fertilidade à inseminação artificial (IA) em bovinos, gerando baixa taxa de serviço, sobretudo em rebanhos *Bos indicus* (Baruselli et al., 2004a). Nesses animais, o comportamento

reprodutivo apresenta particularidades como estro de curta duração e elevado percentual de manifestação à noite (Galina et al., 1996, Pinheiro et al., 1998).

O uso da IA em tempo fixo (IATF) tem aumentado expressivamente no Brasil em decorrência das facilidades de realização dos programas de IA a campo e dos compensadores resultados obtidos. O emprego de associações hormonais (progestágenos, prostaglandina - $\text{PGF}_{2\alpha}$, hormônio liberador de gonadotrofinas - GnRH, gonadotrofina coriônica humana - hCG, gonadotrofina coriônica eqüina - eCG, hormônio foliculo estimulante - FSH e benzoato de estradiol - BE) em protocolos de IATF induz a emergência de uma nova onda de crescimento folicular, controla a duração do crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório e induz a ovulação. Os exames ultrassonográficos para determinação da dinâmica folicular em protocolos de sincronização de ovulação são importantes para a visualização dos efeitos dessas associações hormonais e determinar o momento ideal de inseminação, aumentando a probabilidade de concepção, de acordo com o protocolo utilizado.

A utilização de hormônio com ação foliculo estimulante (eCG) em protocolos de sincronização de ovulação, na retirada do dispositivo de progesterona, tem proporcionado melhor viabilidade do oócito, com maior taxa de prenhez (Baruselli et al., 2004b). Preconiza-se este tratamento para maior desenvolvimento folicular e a formação de corpo lúteo mais funcional quanto à síntese de progesterona. Contudo, a molécula de eCG é de alto peso molecular e induz a formação de anticorpos anti-eCG se usado em aplicações repetidas. Uma alternativa ao uso de eCG é a utilização do FSH-p por apresentar reação imunológica menor e por ter maior disponibilidade e aceitação em vários países. A partir de uma única aplicação de FSH-p, proteína de baixo peso molecular, fracamente antigênica, os folículos crescem continuamente durante três dias (Kenny et al., 2006).

O conhecimento e aperfeiçoamento da biotécnica de IATF deve existir para uma ampla e segura utilização, além de poder propiciar melhor relação custo/benefício na adoção de tal tecnologia. Assim, objetiva-se avaliar a utilização do hormônio foliculo estimulante (FSH-p) em protocolos de sincronização da ovulação em novilhas púberes e vacas mestiças, cíclicas e em anestro.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ciclo estral

O ciclo estral em bovinos apresenta duração média de 21 dias e é regulado por interações e antagonismos endocrinológicos de hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, ovários e útero. Esse período pode ser dividido em duas fases distintas quais sejam: folicular ou estrogênica, que se estende do pró-estro ao estro, culminando com a ovulação; e fase luteínica ou progesterônica (metaestro e o diestro) fase de maior secreção de progesterona, que termina com a luteólise.

O ciclo estral de bovinos apresenta duas ou três ondas de crescimento folicular (Ginther et al., 1989) e, eventualmente, uma ou quatro (Figueiredo et al., 1997). Na emergência cada onda folicular, um dos folículos é selecionado, torna-se dominante e continua o crescimento, enquanto os demais regridem e se tornam atrésicos (Reichenbach et al., 2001). Um dos mecanismos essenciais para a divergência folicular, início da maior diferença nas taxas de crescimento entre os dois maiores folículos da onda, é a diminuição da concentração de FSH plasmático (Ginther et al., 1999). A capacidade do folículo dominante de continuar o crescimento após o declínio da concentração de FSH pode ser decorrente do aumento da biodisponibilidade do fator de crescimento semelhante à insulina do tipo 1 (IGF-1) no folículo, da expressão de RNA mensageiro (RNAm), do receptor de hormônio luteinizante (LH) e da expressão de receptores de LH nas células da granulosa, que conferem maior responsividade ao LH em relação aos folículos menores (Crowe, 1999).

Considerando as dificuldades inerentes à detecção de estro, que pode ser considerada um dos maiores entraves a eficiência reprodutiva, tem-se desenvolvido protocolos que sincronizam a ovulação pela aplicação de fármacos que possibilitam o emprego da IATF, independente da manifestação de estro. Estes protocolos permitem controle do desenvolvimento folicular e que a maioria dos animais expostos ao protocolo ovule e seja inseminada em tempo determinado. Tais protocolos possibilitam inseminar um grande número de vacas sem a necessidade de se implantar programas intensivos de detecção de estro.

A sincronização de estro, como biotécnica reprodutiva, surge como uma ferramenta de manejo auxiliar para o aumento da eficiência produtiva e econômica da atividade pecuária (Odde, 1990). Pela sincronização, o período de IA pode ser reduzido de 21 dias para o mínimo de algumas horas, no caso da IATF, dependendo do método escolhido (Bragança et al., 2004). Programas de sincronização de estro oferecem uma série de benefícios, destacando-se: previsão do momento do estro e IA, redução de custos de mão de obra, concentração do período de parição com consequente uniformidade de produtos e menor tempo de observação de partos e maior praticidade na execução de programas de IA (Gregory & Rocha, 2004). Para isto, um protocolo de IATF deve ser de fácil aplicabilidade, ter alta probabilidade de sucesso, ser administrado em curto intervalo de tempo e ser viável economicamente (relação custo/benefício), sendo fundamental que o programa de sincronização de estro e, ou ovulação seja capaz de induzir a ciclicidade nas vacas em anestro, com boa taxa de concepção.

A eficácia da inclusão da gonadotrofina coriônica equina (eCG), em protocolos de sincronização de estro, é devida ao seu efeito foliculo estimulante (similar ao do FSH). Experimentos comprovaram que a administração 300 a 500 UI de eCG, em protocolos de IATF, estimula o crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório, aumenta a taxa de ovulação e, conseqüentemente, as taxas de prenhez nos programas (Aleixo et al., 1995, Bó et al., 2003). Entretanto, o eCG é uma proteína de alto peso molecular, extraído do soro de éguas prenhes, passível de provocar reações imunológicas (formação de anticorpos), quando utilizado repetidamente. Neste caso, os anticorpos se ligam ao eCG, anulando seu efeito.

2.2. Sincronização de estro

A sincronização de estros é a biotécnica reprodutiva que permite manipular o ciclo estral, com a utilização de substâncias hormonais. A diferença entre sincronização e indução de estros é que a sincronização consiste em encurtar ou prolongar o ciclo estral pela utilização de hormônios ou associações hormonais que induzam a luteólise ou prolonguem a vida do corpo lúteo, ao passo que, a indução consiste em induzir o estro em fêmeas que estejam em anestro, por meio também, do emprego de hormônios ou práticas de manejo. Assim, são processos distintos e aplicáveis a diferentes categorias de animais (Moraes et al., 2001).

O primeiro sucesso na sincronização de estros foi relatado por (Christian & Casida, 1948) e, a partir desta data, a pesquisa tem focado no desenvolvimento de protocolos e produtos de sincronização. A utilização de protocolos de sincronização de estro visa encurtar o período para ocorrência da primeira ovulação, por induzir o crescimento folicular e posterior ovulação em fêmeas que se apresentem em anestro. Vários protocolos são descritos na literatura, os quais apresentam resultados variáveis, dependendo da condição sanitária e nutricional das fêmeas. Para a escolha do protocolo, devem ser analisadas as condições individuais de cada rebanho, levando-se em consideração as condições citadas anteriormente, além da relação custo/benefício de seu uso (Moraes et al., 2001).

Os principais hormônios utilizados na indução do estro e/ou ovulação são progestágenos e GnRH, os quais muitas vezes são utilizados em associação com outros hormônios, como PGF_{2α} (e seus análogos sintéticos), estradiol, eCG ou FSH. Estas associações visam manipular tanto a dinâmica folicular como o corpo lúteo (Mapletoft et al., 2000), aumentar a fertilidade do estro induzido e aumentar a precisão do momento da ovulação e qualidade do ovócito, quando se utilizam protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

2.3. Prostaglandina F_{2α}

As prostaglandinas são substâncias orgânicas, biologicamente ativas, com efeitos fisiológicos e farmacológicos no organismo, muito potentes. Ocorrem naturalmente em muitos tecidos e situações biológicas. Inicialmente encontradas na próstata (Von Euler, 1934 citado por Von Euler, 1973), daí o nome de prostaglandina. A

maior parte das prostaglandinas seminais se origina das glândulas vesiculares e não da próstata, mas o nome original permanece.

Os efeitos das diferentes prostaglandinas (PGF) na reprodução dos animais domésticos são amplos, atuando no desenvolvimento folicular, ovulação, regressão luteal, implantação e manutenção da gestação, parto e fisiologia puerperal (Weems et al., 2006). A $PGF_{2\alpha}$ e seus análogos sintéticos são utilizados na sincronização do ciclo estral das fêmeas domésticas devido à sua ação luteolítica, que é promover a vasoconstrição seguida de uma cascata apoptótica. A $PGF_{2\alpha}$ e seus análogos têm sido os agentes farmacológicos mais utilizados nos programas para sincronização do estro em fêmeas bovinas.

Nas fêmeas com a lise do corpo lúteo, o estro aparece a intervalos de cinco ou mais dias, o que torna impraticáveis os programas de inseminação e transferência de embriões em tempo fixo (Bó & Baruselli, 2002). Esta variação no intervalo da aplicação da $PGF_{2\alpha}$ ao estro e a ovulação é decorrente do estado de desenvolvimento dos folículos no momento do tratamento. Dessa forma, se o tratamento for realizado quando o folículo dominante está na fase final do seu crescimento, ou no início da sua fase estática, a ovulação irá ocorrer dentro de dois a três dias. Por outro lado, se a $PGF_{2\alpha}$ for aplicada quando o folículo dominante estiver no meio ou no final da sua fase estática, a ovulação irá ocorrer cinco a sete dias mais tarde, após o crescimento do folículo dominante da próxima onda folicular (Kastelic & Ginther, 1991). As grandes variações no intervalo do tratamento à ovulação, além do manejo da detecção de estro, reforçam a necessidade de protocolos destinados a controlar tanto a fase luteal quanto o crescimento folicular e a ovulação, para aumentar a eficiência reprodutiva nos rebanhos.

Alguns resultados (Cruz et al., 1997) sugerem que a $PGF_{2\alpha}$ pode exercer efeito na ciclicidade por causar a liberação de LH, independente dos níveis de progesterona, e que a administração de $PGF_{2\alpha}$ 30 horas antes do GnRH aumenta o efeito de indução deste na liberação do LH e resposta ovulatória.

2.4. Progestágenos

A progesterona é o progestágeno natural mais importante secretado pelas células luteínicas. Assim como os estrógenos, é derivada do colesterol, sendo também secretada pela placenta, testículos e córtex adrenal, em pequenas quantidades.

Grande número de progestágenos sintéticos tem sido utilizado na prática como: acetato de medroxiprogesterona (MAP); acetato de clormadinona (CAP); acetato de melengestrol (MGA) e acetato de flurogesterona = clonolone (FGA), bastantes eficazes como sincronizadores de estro e para aumento de peso em novilhas. O MGA inibe a ovulação, mas permite o crescimento de folículos ovarianos.

A progesterona e sua associação com outros hormônios estão amplamente utilizadas no tratamento do anestro pós parto em bovinos, com resultados variáveis na indução de estro. Os resultados variam de acordo com o tipo de progesterona que é utilizada e com o tempo de tratamento (Nation et al., 2000; Perry et al., 2002; Stevenson et al., 2003).

A administração contínua de progesterona por 5 a 9 dias inibe a liberação de LH e, quando há a interrupção de seu fornecimento, é desencadeada uma onda de LH capaz de induzir o crescimento final do folículo pré-ovulatório, culminando com a ovulação (Moraes et al., 2001), e a administração de estradiol aumenta a resposta de expressão de estro (McDougall, 1994). Assim, o tratamento com progesterona aparentemente sensibiliza vacas em anestro em resposta ao nível folicular de estradiol. A utilização de progesterona no tratamento do anestro pós parto tem proporcionado resultados superiores aos obtidos com MGA, principalmente por diminuir a ocorrência de corpos lúteos de curta duração após o tratamento de indução de estro (Perry et al., 2004).

2.5. Estrógenos

São substâncias derivadas do colesterol e seus precursores imediatos são androstenediona e testosterona. Vários estrógenos são secretados pelos ovários dos mamíferos: 17β -estradiol (E_2), estrona, estriol e outros. O LH estimula as células tecais do folículo que secretam testosterona, que é convertida em estradiol nas células da granulosa por ação do FSH na síntese da enzima aromatase.

Os estrógenos são secretados pelas células da granulosa, no folículo em desenvolvimento e maduro e no corpo lúteo (células luteínicas), placenta, testículos e pequenas quantidades na córtex adrenal. Como os demais esteróides, os estrógenos não são armazenados na glândula, mas rapidamente utilizados ou degradados no fígado, conjugados com sulfatos inorgânicos ou com ácido glicurônico e eliminados na urina.

A utilização do E₂ em programas de sincronização de estro e ovulação está relacionada com sua habilidade em induzir o surgimento da onda pré-ovulatória de LH, luteólise durante a fase folicular e atresia folicular (Bó et al., 1993; Lammoglia et al., 1998).

A aplicação de estrógenos causa, inicialmente, supressão da secreção tanto de FSH quanto de LH (Martinez et al., 2003), levando a atresia dos folículos. Segue-se a liberação de um pico de FSH e, conseqüentemente, o recrutamento de uma nova onda. O intervalo da aplicação do estrógeno e do recrutamento da nova onda depende da dose administrada do estrógeno, variando em torno de 36 a 72 horas (Martinez et al., 2005). O desenvolvimento de uma nova onda folicular ocorre em torno de quatro dias após a aplicação do E₂ e depende do reaparecimento do pico de FSH (Bó et al., 1993). Na ausência de progesterona, o E₂ induz liberação de GnRH e LH e ovulação do folículo dominante em 36 a 72 horas, dependendo do éster de E₂ utilizado.

Diferentes ésteres de E₂ veem sendo utilizados para a sincronização do estro. A maioria é utilizada como solução injetável, como o valerato de estradiol (VE), benzoato de estradiol (BE), cipionato de estradiol (CE) e E₂ (Bó et al., 1994; Murray et al., 1998). A maior diferença entre esses compostos é a meia-vida após a administração. A duração da meia-vida é maior em ordem crescente: E₂, BE, VE e CE. A administração de uma única injeção de VE (5 mg) resulta na elevação da concentração plasmática de estradiol por um período de cinco a sete dias (Bó et al., 1993), sendo que uma única injeção de E₂ (5 mg) resulta na elevação plasmática de estradiol por apenas 42 horas (Bó et al., 1994).

Estas diferenças promovem mudanças referentes ao protocolo de sincronização estabelecido (Lopez, 2005). Os estrógenos de longa duração promovem o surgimento de uma onda folicular muito variável e ainda estão ativos no momento de induzir a ovulação durante o protocolo de IATF, por isso o éster de estrógeno mais utilizado é o BE. Colazo et al. (2003) ao procederem análise comparativa do CE com o E₂ e BE, observaram que o CE foi menos eficaz em sincronizar a emergência da onda e ovulação, sem, repercutir na taxa de gestação. Lopes et al. (2000) relataram sucesso na utilização do CE em protocolos de IATF.

2.6. Hormônio foliculo estimulante

O hormônio foliculo estimulante (FSH) estimula o crescimento e a maturação do foliculo ovariano ou foliculo de Graaf. O FSH por si só não causa secreção de

estrógenos pela camada da granulosa do folículo ovariano, ao contrário, necessita da presença do LH para estimular a produção estrogênica.

As preparações comerciais são extraídas e purificadas da hipófise do suíno (FSH-p). A base de sua ação e ligação é ativação de receptores de FSH nas células da granulosa, principalmente dos folículos de tamanho médio e pequeno, estimulando o crescimento contínuo desses, provavelmente pelo fato de inibir a apoptose (Armstrong, 1993). No entanto, existem evidências de que receptores para FSH seriam ativos funcionalmente, durante o desenvolvimento pré-antral.

O crescimento de folículos até ± 2 mm é independente do FSH, visto que Braw-Tal & Yossefi (1997) observaram o crescimento de folículos primordiais *in vitro* sem FSH. No entanto, existem evidências de que receptores para o FSH seriam ativos funcionalmente, durante o desenvolvimento pré-antral. Em ovários bovinos, fetais e adultos, a expressão desses receptores foi detectada em folículos, apresentando uma ou duas camadas de células da granulosa (Xu et al., 1995; Perry et al., 2000), e a ligação do FSH foi observada em células da granulosa de folículos primários (Wandji et al., 1992).

Secções corticais ovarianas de ratas, em cultivo, quando adicionados FSH e hCG, mostraram aumento do número de folículos com mais de seis camadas de células da granulosa e com a presença das células da teca, sugerindo que o receptor para o FSH em folículos pré-antrais foi capaz de iniciar os mecanismos de sinal de tradução (Parrot & Skinner, 1999). Os folículos antrais, com diâmetro maior ou igual do que 2 mm, são responsivos ao FSH demonstrado pela ocorrência de ondas de crescimento folicular (Webb et al., 1999).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, J.A.G.; DESCHAMPS, J.C.; BORDIGNON, V. et al. Gonadotrofina coriônica eqüina, purificação, caracterização e resposta ovariana em ovinos e suínos. **Ciência Rural**, v.25, n.1, p.111-114, 1995.
- ARMSTRONG, D.T. Recent advances in superovulation of cattle. **Theriogenology**, v.39, p.7- 24, 1993.
- BARTLETT, O.P.C.; KIRK, J.; COE, P. et al. Descriptive epidemiology of anestrus in michigan holstein-friesian cattle. **Theriogenology**, v.27, p.31, 1987.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de corte. **In: I Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada**, Londrina, 2004a.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. 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, 2004b.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; NASSER, L.F. et al. Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. **Theriogenology**, v.36, p.169-183, 1993.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; PIERSON, R.A. et al. Follicular wave dynamics after estradiol-17_ treatment of heifers with or without a progestogen implant. **Theriogenology**. v.41, p.1555-1569, 1994.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Programas de inseminación artificial a tiempo fixo em el ganado bovino em regiones subtropicales y tropicales. **III curso internacional de ganadería de doble propósito. In: XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal**. Valera 22 al 26 de Octubre. ULA-Trujilo, 2002.

- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos Indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.
- BRAGANÇA, J.F.M.; GONÇALVES, P.B.D.; BASTOS, G.M. et al. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pre-fixado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.28, p.73-77, 2004.
- BRAW-TAL, R; YOSSEFI, S. Studies *in vivo* and *in vitro* on the initiation of follicle growth in the bovine ovary. **Journal of Reproductive and Fertility**, v.109, p.165-171, 1997.
- BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v.83, p.211–218, 2003.
- CHRISTIAN. R.E; CASIDA. L.E. The effect of progesterone in altering the oestral cycle of the cow. **Journal of Animal Science**, v.7, p.540, 1948.
- 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.
- CROWE, M.A. Gonadotrophic control of terminal follicular growth in cattle. **Reproduction of Domestic Animal**, v.34, p.157-166, 1999.
- CRUZ, L.C.; VALLE, E.R.; KESLER, D.J. Effect of prostaglandin F and gonadotropin releasing hormone induced luteinizing hormone releases on ovulation and corpus luteum function of beef cows. **Animal Reproduction Science**, v.49, p.135-142, 1997.
- EL, A.; ZAIN, D.; NAKAO, T. et al. Factors in the resumption of ovarian activity and uterine involution in postpartum dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.38, p.203-214, 1995.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997.
- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K. et al. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2009–2015, 1997.

- GALINA, C.S.; ORIHUELA, A.; BUBIO, I. Behavioural trends affecting oestrus detection in Zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.465-470, 1996.
- GINTHER, O.J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrus cycle with two and three follicular waves. **Theriogenology**, v.87, n.1, p.223-230, 1989.
- GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J. et al. Selection of the dominant follicle in cattle: establishment of follicle deviation in less than 8 hours through depression of FSH concentrations. **Theriogenology**, v.52, p.1079-93, 1999.
- GREGORY, R.M.; ROCHA, D.C. Protocolos de sincronização e indução de estros em vacas de corte na Rio Grande do Sul. In: 1º Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada, 2004, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: Hotel Sumatra. p.56-81, 2004.
- HOLNESS, D.H.; HOPLEY, J.D.H.; HALE, D.H. The effects of plane of nutrition, live weight, temporary weaning and breed on the occurrence of oestrus in beef cows during the postpartum period. **Animal Production**, v.26, p.47-54, 1978.
- KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis. **Animal Reproduction Science**, v.26, p.13-24, 1991.
- KENNY, A.L.; PHILLIPS, N.J.; D'OCCHIO, M.J. Ovarian follicular response to repeat stimulation with FSH and oocyte recovery and quality in Brahman heifers treated with a GnRH agonist. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v.64, p.456, 2006.
- LAMB, G.C.; LYNCH, J.M.; GRIEGER, D.M. et al. *Ad libitum* suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cow's own calf prolongs postpartum anovulation. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2762-2769, 1997.
- LAMMOGLIA, M.A.; SHORT, E.E.; BELLOWS, S.E. et al. Induced and synchronized estrus in cattle: Dose titration of Estradiol benzoate in peripubertal heifers and a postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1662-1670, 1998.
- LOPES, F. L.; ARNOLD, D. R.; WILLIAMS, J. et al. Use of estradiol cypionate for timed insemination. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 216, 2000.
- LOPEZ, J.P.S. Ovarian and hormonal events during synchronization of ovulation and timed appointment breeding of *Bos indicus*- influenced cattle using intravaginal progesterone, GnRH and prostaglandin F_{2α}. **Master of Science**. Texas A&M University, 96p, 2005.

- MAPLETOFT, R.J; BÓ, A.G.; ADAMS, G.P. Advances in the manipulation of donor and recipient estrous cycle in bovine embryo transfer programs. **Arquivos Faculdade Veterinária UFRGS**, v.28, n.1, p.23-48, 2000.
- MARTÍNEZ, M.F.; COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P. et al. Effects of estradiol and progesterone on plasma steroid and gonadotropin concentrations in CIDR-treated ovariectomized cows. **Theriogenology**, v.59, p.224, 2003.
- MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; BÓ, G.A. et al. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR- treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v.86, p.37-52, 2005.
- MCDOUGALL, S. Postpartum anoestrus in the pasture grazed New Zealand dairy cow. **Tese de Phd. Massey University, New Zealand.** 1994.
- MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: P.B.D. Gonçalves, J.R. Figueiredo, V.J.F. Freitas. **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal.** São Paulo, Livraria Varela, 2001.
- MURRAY, A.J.; CAVALIERI, J.; D'OCCHIO, M.J. et al. Treatment with progesterone and 17 beta-oestradiol to induce emergence of a newly-recruited dominant ovulatory follicle during oestrus synchronisation with long-term use of norgestomet in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v.50, p.11-26,1998.
- NATION, D.P.; BURKE, C.R.; PARTON, G. et al. Hormonal and ovarian responses to a 5-day progesterone treatment in anoestrous dairy cows in the third week postpartum. **Animal Reproduction Science**, v.63, p.13–25, 2000.
- ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.817-830, 1990.
- PARROTT, J.A; SKINNER, M.K. Kit-ligand/stem cell factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis. **Endocrinology**, v.140, p.4262-4271, 1999.
- PERRY, G.A.; MANIKKAM, M.; GARVERICK, H.A. et al. Ontogeny of FSH receptor and steroidogenic enzyme mRNA expression in bovine fetal ovaries. **Biology of Reproduction**, v.62, sup.1, p.196, 2000.
- PERRY, G.A.; KOJIMA, F.N.; SSLFEN, B.E. Effect of an orally active progestin on follicular dynamics in cycling and anestrous postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1932–1938, 2002.
- PERRY, G.A.; SMITH M.F.; GEARY, T.W. Ability of intravaginal progesterone inserts and melengestrol acetate to induce estrous cycles in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science**, v.82, p.695–704, 2004.

- PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEREDO, R.A. et al. Estrous behavior and the estrus- to- ovulation interval in Nelore Cattle (*Bos indicus*) with prostaglandin F_{2α} or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, p.667-81, 1998.
- REICHENBACH, H.D.; OLIVEIRA, M.A.L.; LIMA, P.F. et al. Transferência e criopreservação de embriões bovinos. In: GONÇALVES, P.B.D.; FIGUEIREDO, J.R.; FREITAS, V.J.F. (Eds). **Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal**, São Paulo: Livraria Varela, p.127-177, 2001.
- STEVENSON, J.S.; LAMB, G.C.; JOHNSON, S.K. et al. Supplemental norgestomet, progesterone, or melengestrol acetate increases pregnancy rates in suckled beef cows after timed inseminations **Journal of Animal Science**, v.81, p.571–586, 2003.
- VON EULER, U.S. The First Heymans Memorial Lecture, Ghent, March 24, 1972. Some aspects of the actions of prostaglandins. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, p.295-307, 1973.
- WANDJI, S.A.; PELLETIER, G.; SIRARD, M.A. et al. Ontogeny and cellular localization of 125I-labeled insulin-like growth factor-I, 125I-labeled follicle-stimulating hormone, and 125I-labeled human chorionic gonadotropin binding sites in ovaries from bovine fetuses and neonatal calves. **Biology of Reproduction**, v.47, p.814-822, 1992.
- WEBB, R.; CAMPBELL, B.K.; GARVERICK, H.A. et al. Molecular mechanisms regulating follicular recruitment and selection. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.54, p.33-48, 1999.
- WEEMS, C.W.; WEEMS, Y.S.; RANDEL, R.D. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. **The Veterinary Journal**, v.17, p.206-228, 2006.
- XU, Z.Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.H. et al. Expression of FSH and LH receptor messenger ribonucleic-acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53 , p.951-957, 1995.
- YAVAS, Y., J.S.; WALTON. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. **Theriogenology**, v.54, p.25-55, 2000.

Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) púberes

Resumo: Objetivou-se avaliar a utilização do hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) sobre a dinâmica folicular e taxa de prenhez de novilhas mestiças púberes. Utilizaram-se 138 novilhas em experimentos com delineamento inteiramente casualizado. No experimento I, avaliou-se a dinâmica pelos protocolos: Tcontrole (n= 11 novilhas) – dia 0, inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (Primer[®]) mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]); dia 8, retirada do Primer[®] e aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α} (Prolise[®]); dia 9, foi aplicado (IM) 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10, a IA foi realizada entre 48 e 54 horas após a retirada do Primer[®]; TFSH (n= 11 novilhas) – similar ao Tcontrole, sendo no dia 8 administrados 15 mg de FSH-p (Folltropin[®]). Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0, 8, e no dia da IATF até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante. No experimento II, avaliou-se a taxa de prenhez em protocolos similares, diferindo pelo número de animais: Tcontrole= 55 novilhas e TFSH= 61 novilhas. Os dados foram analisados em delineamento inteiramente casualizado a 5% de probabilidade. Não foi verificada diferença na taxa de crescimento folicular, sendo de 1,21 e 1,93 mm/dia para as novilhas do Tcontrole e TFSH, respectivamente (P>0,05). Não houve efeito do protocolo de sincronização no diâmetro do maior folículo no dia 10, sendo de 9,47 e 10,27 mm nas fêmeas do Tcontrole e TFSH, respectivamente (P>0,05). A administração do FSH-p em protocolo de sincronização da ovulação não afetou a taxa de ovulação comparado ao grupo controle (81,82%; P>0,05). No entanto, as novilhas do TFSH apresentaram taxa de prenhez superior (50,82%) às do Tcontrole (30,91%; P<0,05). A administração de FSH-p em protocolo de sincronização de ovulação em novilhas mestiças proporciona eficiente aumento da taxa de prenhez.

Palavras-chave: biotecnologia, bovinos, fertilidade, folículos.

Follicle stimulating hormone (FSH-p) in the ovulation synchronization protocol of crossbred puberal heifers (*Bos taurus indicus* vs *Bos taurus taurus*) puberty

Abstract: The aim was to evaluate the utilization of the follicle stimulating hormone (FSH-p) in IATF protocols in terms of follicular dynamics and pregnancy rate in crossbred puberal heifers. One hundred and thirty eight heifers were used in random design experiments. In experiment I the dynamics of the protocols were evaluated: Tcontrol (n = 11 heifers) – day 0, insertion of the intravaginal progesterone device (Primer®) plus an application (IM) of 2 mg of estradiol benzoate (Estrogin®); day 8, withdrawal of the Primer® and application, IM, of 0.150 mg of PGF_{2α} (Prolise®); day 9, (IM) 1 mg of estradiol benzoate was applied; day 10, the IA was carried out between 48 and 54 hours after the removal of the Primer; TFSH (n = 11 heifers) – similar to the Tcontrol, but on day 8, 15 mg of FSH-p were administered (Folltropin®). The ultrasonography examinations were carried out on days 0, 8, and on the IATF day until ovulation was determined by the absence of the dominant follicle. Experiment II evaluated the pregnancy rate in similar protocols, differing in the number of animals: Tcontrol = 55 heifers and TFSH = 61 heifers. The data were analyzed in a random design to 5 % probability. No difference was detected for the follicular growth rate, being 1.21 and 1.93 mm / day for the heifers in the Tcontrol and TFSH, respectively (P>0,05). The diameter of the largest follicle was not affected by the treatment on day 10, being 10.27 and 9.47 mm in the TFSH and Tcontrol females, respectively (P>0,05). The ovulation rate was not affected by the FSH-p treatment in the ovulation synchronization protocol (81.82 %, P> 0.05). However, the TFSH heifers showed a pregnancy rate (50.82 %) superior to that of the Tcontrol (30.91 %; P <0.05). In this way, the administration of FSH-p in the synchronization protocol of the ovulation in crossbred heifers did not show differences in the follicular dynamics patterns, but resulted in greater pregnancy rate.

Keywords: artificial insemination, biotechnology, cattles, fertility, follicle, hormones

1. Introdução

A utilização da inseminação artificial (IA) apresenta muitas vantagens, como a padronização do rebanho, o controle de doenças sexualmente transmissíveis, a diminuição do custo de reposição de touros etc. E as principais vantagens dessa técnica estão diretamente ligadas ao processo de melhoramento genético e à obtenção de animais com maior potencial de produção e reprodução. No entanto, o sucesso de um programa de IA está intimamente correlacionado com a eficiência de detecção de estro.

A utilização de protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) como estratégia de facilitar a inseminação é importante por ser realizada sem a detecção de estro, além de aumentar a taxa de serviço em bovinos. Os protocolos de IATF consistem em um tratamento hormonal para a sincronização da ovulação, por controlar as fases folicular e luteínica.

Um fator que pode interferir na taxa de prenhez em protocolos de IATF está relacionado ao diâmetro do maior folículo na ovulação induzida, pois quanto menor o diâmetro do folículo ovulatório, menor as chances de concepção (VASCONCELOS et al., 1999; COLAZO et al., 2003; MUSSARD et al., 2007). Existe estreita relação entre o diâmetro do folículo ovulatório e o volume do corpo lúteo quanto aos níveis sanguíneos de progesterona (VASCONCELOS et al., 1999). Dessa forma, a taxa de prenhez em fêmeas submetidas à IATF pode ser comprometida na indução da ovulação de pequenos folículos, com formação de pequenos corpos lúteos e, conseqüentemente, menor produção de progesterona. Baixo nível de progesterona circulante suprime o desenvolvimento embrionário inicial (GARRET et al., 1988; MANN et al., 2006). Assim, aplicação de FSH-p na remoção do dispositivo de progesterona, ou seja, na fase em que está ocorrendo a divergência folicular, proporciona aumento no diâmetro do folículo ovulatório; logo, há maior volume do corpo lúteo, que resulta em aumento da concentração de P₄ plasmática e, conseqüentemente, da taxa de prenhez.

Os protocolos já desenvolvidos têm sido utilizados, com sucesso, em novilhas *Bos taurus taurus* (MARTÍNEZ et al., 2000). No entanto, os programas de IATF em novilhas *Bos taurus indicus* têm sido implementados (BARUSELLI et al., 2001), necessitando de mais estudos para incremento da taxa de prenhez. A maioria dos trabalhos publicados sobre protocolos de IATF em novilhas se relaciona às raças puras, europeias e zebuínas. Todavia, poucos estudos são realizados com animais mestiços.

Nota-se, assim, a necessidade de estudo que caracterize o uso de protocolos de IATF em novilhas mestiças *B. taurus* x *B. indicus*.

Objetivou-se, neste estudo, avaliar a utilização do hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolos de IATF quanto à dinâmica folicular e à taxa de prenhez em novilhas mestiças púberes.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado nos meses de fevereiro a maio de 2009, em propriedade situada no Município de Dores do Rio Preto, Estado do Espírito Santo, nas coordenadas geográficas de 20°41' Sul, 41°50' Oeste e 774 m de altitude. A propriedade localizava-se em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos e clima tropical de altitude. A temperatura média anual é de 19,2 °C e a precipitação pluviométrica, de 1.000 mm anuais.

Foram utilizadas 138 novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) púberes com idade de 18 a 24 meses, não gestantes, previamente selecionadas por exame ginecológico. O manejo das novilhas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem principalmente de braquiário (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu), com fornecimento de sal mineral e água *ad libitum*. As novilhas púberes foram determinadas pela presença de corpo lúteo, observado por palpação retal e ultrassonografia. Aquelas sem corpo lúteo no primeiro exame foram avaliadas novamente, após cinco dias, para confirmação.

Na inserção do dispositivo, registrou-se o peso corporal das novilhas (PV, kg) e determinou-se a condição corporal (CC, escala de 1 a 5), de acordo com a tabela proposta por Edmonson et al. (1989). Foram selecionadas novilhas com peso corporal médio de 361,3±1,1 kg e condição corporal com o escore médio de 3,4±0,01.

Foram executados dois experimentos simultâneos em delineamento inteiramente casualizado, sendo no experimento I (n = 22 novilhas) realizados os exames da dinâmica folicular e, no experimento II (n = 116 novilhas), avaliada a eficiência reprodutiva das fêmeas com o emprego dos protocolos de sincronização da ovulação.

No experimento I, as novilhas foram distribuídas em dois tratamentos: Tcontrole e TFSH. No Tcontrole (n = 11 novilhas), adotou-se o seguinte protocolo: dia 0 (D0),

inserção de dispositivo intravaginal de progesterona¹ (DIP) mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol²; dia 8 (D8), retirada do DIP e aplicação, IM, de 0,15 mg de PGF_{2α}³; dia 9 (D9), aplicado (IM) 1 mg de benzoato de estradiol; e dia 10 (D10), realizada a inseminação artificial (IA) entre 48 e 54 horas após a retirada do DIP. No TFSH (n = 11 novilhas), o protocolo utilizado foi similar ao Tcontrole, sendo no dia 8 administrados 15 mg de FSH-p⁴.

Os exames ultrassonográficos foram realizados com um aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (Aloka[®], modelo SSD500), nos dias 0, 8 e 10, em que neste dia se iniciou o acompanhamento da dinâmica folicular até a ovulação pela determinação da ausência do folículo dominante. Verificou-se no D0 o *status* folicular, e em seguida, nos dias 8, 10 e deste até a ovulação, com intervalo de 12 horas, avaliaram-se a dinâmica folicular e a taxa de ovulação. Também foram determinados o número e diâmetro dos folículos e a presença de corpo lúteo. Os folículos foram classificados de acordo com o seu diâmetro: pequenos (FP<6 mm), médios (FM de 6 a 8,0 mm) e grandes (FD>8,0 mm). A taxa de crescimento (mm/dia) foi calculada pela diferença entre os diâmetros do folículo nos dias 10 e 8, dividida pelo número de dias.

No experimento II, as novilhas foram distribuídas uniformemente pelo peso e condição corporal nos tratamentos propostos no experimento I: Tcontrole = 55 novilhas e TFSH = 61 novilhas.

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen de touros da raça Girolando de Central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial (ASBIA).

O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após a inseminação artificial, por palpação retal, sendo determinada a taxa de prenhez de cada tratamento (número de novilhas prenhes dividido pelo número total de novilhas do tratamento).

Todos os dados foram analisados no programa SAS, versão 9.0 (2002), a 5% de probabilidade. A taxa de crescimento, o diâmetro do maior folículo no dia 10 e o intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação foram avaliados por análise de variância, considerando-se o efeito dos tratamentos. O número médio de folículos por novilha foi analisado em parcela subdividida, considerando-se o

¹1,0 g de Progesterona, PRIMER[®], Tecnopec, Brasil.

²1 mg/mL benzoato de estradiol, Estrogin[®], Farmavet Produtos Veterinários Ltda., Brasil.

³0,75 mg/mL d-cloprostenol, Prolise[®], ARSA S.R.L., Argentina.

⁴20 mg/mL NIH-FSH-P1, Folltropin[®]-V, Bioniche AnIMal Health Canadá Inc., Canadá.

efeito dos tratamentos nas parcelas e o dia de observação na subparcela, com comparação de médias pelo teste de Tukey. Porém, as variáveis qualitativas (classe folicular e taxas de prenhez e de ovulação) foram analisadas por análise de regressão logística. Na classe folicular, consideraram-se, ainda, o efeito do dia de observação e a interação com o tratamento.

3. Resultados e Discussão

Não houve interação entre o dia de observação e o tratamento quanto ao número de folículos e à classificação folicular ($P>0,05$; <6 mm, 6 a 8 mm e >8 mm – Tabela 1). As médias do número de folículos nos dias 0, 8 e 10 do protocolo foram de $9,55\pm 0,63$, $10,59\pm 0,63$ e $12,68\pm 0,68$, respectivamente. Número similar à média de 10,53 folículos, encontrada por Oliveira et al. (2008a) em protocolo de IATF em novilhas Nelore.

Tabela 1 – Número de folículos (novilhas/dia; média±erro-padrão) e classificação folicular, em função dos dias de observação e dos tratamentos

	Nº de folículo	Diâmetro folicular (mm)		
		<6 mm (%)	6 a 8 mm (%)	>8 mm (%)
		Tratamento ²		
Tcontrole	$11,00\pm 0,51^a$	$90,25(324/359)^a$	$4,18(15/359)^a$	$5,57(20/359)^a$
TFSH	$10,88\pm 0,51^a$	$90,91(330/363)^a$	$3,58(13/363)^a$	$5,51(20/363)^a$
		Dia de observação ³		
0	$9,55\pm 0,63^b$	$90,95(191/210)^a$	$2,86(6/210)^a$	$6,19(13/210)^a$
8	$10,59\pm 0,63^{ab}$	$91,42(213/233)^a$	$4,72(11/233)^a$	$3,86(9/233)^a$
10	$12,68\pm 0,63^a$	$89,61(250/279)^a$	$3,94(11/279)^a$	$6,45(18/279)^a$

¹TControle= tratamento controle; TFSH= tratamento com FSH. ²Valores seguidos por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si pelo teste χ^2 na análise de regressão logística ($P<0,05$). ³Médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si pelo teste de Tukey ($P<0,05$).

Não houve diferença quanto à classificação folicular ($P>0,05$). Entretanto, observou-se que no dia 8 ocorreu aumento no número de folículos médios em ambos os tratamentos, em relação ao dia 0, e, no dia 10, como esperado, houve aumento no número de folículos dominantes (>8 mm). Assim, evidencia-se que as condições fisiológicas proporcionadas pela administração da progesterona exógena até o dia 8 proporcionaram aumento do crescimento folicular. Também, a administração de benzoato de estradiol, associada à de progesterona, foi capaz de causar atresia folicular, verificando-se diminuição dos folículos dominantes no dia 8. Tal fato reforça ainda mais evidências de que, com o uso de protocolos de progesterona associada a 2 mg de

benzoato de estradiol, se pode sincronizar a emergência da onda folicular com êxito em novilhas mestiças, corroborando estudos anteriores (BÓ et al., 1995; BURKE et al., 2001; MORENO et al., 2001).

Não foi verificada diferença na taxa de crescimento folicular entre o Tcontrole e TFSH ($P > 0,05$; Tabela 2). Carvalho et al. (2008) não observaram diferença, na taxa de crescimento de folículos de novilhas de diferentes raças submetidas a protocolo de IATF sem a utilização de hormônio foliculo estimulante no dia 8, sendo 0,9; 1,2; e 1,1 os valores reportados em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus*, respectivamente. Os valores verificados neste estudo aproximaram-se da taxa de crescimento em novilhas mestiças que não foram submetidas a protocolos de IATF, como os reportados por Borges et al. (2001), que variaram de 1,0 a 1,4 mm/dia. Entretanto, a taxa de crescimento do TFSH (1,93 mm/dia) foi maior que as de crescimento reportadas por diferentes pesquisadores em estudos com novilhas de diversas raças (SAVIO et al., 1988; KNOFF et al., 1989; FIGUEIREDO et al., 1997; GRADELA et al., 2000).

Não houve interação entre o tratamento e o diâmetro do maior folículo no dia 10 ($P > 0,05$; Tabela 2). O tratamento com FSH não aumentou o tamanho do folículo ovulatório medido 48 horas após a retirada do dispositivo de progesterona. Esses valores verificados neste estudo estão de acordo com pesquisas preliminares realizadas com gado de corte (BARUSELLI et al., 2004; SMALL et al., 2009) e gado leiteiro (VENERANDA et al., 2006; SOUZA et al., 2009), em que se utilizaram o hormônio eCG pela sua ação foliculo-estimulante em bovinos. Carvalho et al. (2008), utilizando protocolo de IATF em novilhas, reportaram diâmetro máximo do folículo dominante de 9,5; 12,3; e 11,6 mm em novilhas *B. indicus*, *B. indicus* x *B. taurus* e *B. taurus*, respectivamente. O diâmetro do maior folículo verificado em novilhas mestiças foi similar ao de 9,4 a 12,1 mm relatado por Figueiredo et al. (1997) e 9,8 mm observado em protocolo de IATF por Oliveira et al. (2008a), em novilhas da raça Nelore, e inferiores aos de animais de origem europeia (13 a 18 mm; GINTHER et al., 1989). Por sua vez, Borges et al. (2001), estudando a dinâmica folicular em novilhas cíclicas mestiças Holandês/Zebu, relataram que o diâmetro máximo do primeiro FD, em animais de duas ondas, foi de 7,1 mm, e, em animais com três ondas, os valores foram de 6,8 e 6,2 mm, no primeiro e segundo folículos dominantes, respectivamente, valores esses inferiores aos encontrados neste estudo. Assim, os protocolos de IATF foram eficientes quanto ao crescimento folicular, independentemente do FSH-p. Esse menor diâmetro do

foliculo ovulatório em novilhas mestiças pode ser o resultado da menor taxa de crescimento folicular que apresentam em relação aos de animais de raças taurinas (BORGES et al., 2001).

Tabela 2 – Taxa de crescimento folicular, diâmetro do maior foliculo no dia 10 e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação, em função dos tratamentos

Item	Tratamento ¹		Valor-P ²
	Tcontrole	TFSH	
Taxa de crescimento folicular (mm/dia)	1,21	1,93	0,1001
Diâmetro do maior foliculo no dia 10 (mm)	9,47±0,57	10,27±0,57	0,4779
Intervalo à ovulação (h)			
Retirada do dispositivo de progesterona	54,67	56,00	0,2837
IATF	6,67	8,00	0,2837

¹TControle= tratamento controle; TFSH= tratamento com FSH. ²Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado.

O intervalo da retirada do dispositivo à ovulação (Tabela 2) foi menor que os relatados na literatura, de 66,38 h (OLIVEIRA et al., 2008a) e 74,3 h (BARUSELLI et al., 2003a), e similar aos intervalos de 54,1 e 51,4 h reportados por Oliveira et al. (2008b), que utilizaram o FSH-p e a eCG, em novilhas da raça Nelore. O intervalo da IATF à ovulação foi inferior à encontrada, de 15,78 h (OLIVEIRA et al., 2008a), e superior a 3,40 h (OLIVEIRA et al., 2008b).

Foi verificado que, para o oócito, o melhor período para a fertilização é entre 6 e 10 h após a ovulação (AYRES et al., 2008). Adicionalmente, Roelofs et al. (2005) demonstraram que a probabilidade de ocorrer concepção diminui à medida que a IA se aproxima do momento da ovulação. O momento ideal para obter grandes taxas de fertilização é em torno de 24 e 12 h antes da ovulação e 16-12 h para alcançar maior porcentagem de embriões de alta qualidade (89% de embriões recuperados; Roelofs et al., 2006). Assim, esse pequeno intervalo da IATF à ovulação pode ter prejudicado a taxa de prenhez.

A administração do FSH-p na IATF em novilhas, no dia 8 do protocolo de sincronização da ovulação, não aumentou a porcentagem de novilhas que ovularam ($P>0,05$; Tabela 3). No entanto, as novilhas que receberam FSH-p apresentaram maior taxa de prenhez (50,82%) em relação às que não receberam (30,91%; $P<0,05$). É provável que a dose de 15 mg de FSH-p tenha sido eficiente em alterar a viabilidade do

pool de folículos recrutados e o desenvolvimento do folículo dominante nas novilhas do TFSH.

Tabela 3 – Taxas de ovulação e prenhez, em função dos tratamentos

Item	Tratamento ¹		Valor-P ²
	Tcontrole	TFSH	
Taxa de ovulação (%)	81,82 (9/11)	81,82 (9/11)	1,000
Taxa de prenhez (%)	30,91 (17/55)	50,82 (31/61)	0,0289

¹Tcontrole= tratamento controle; TFSH= tratamento com FSH. ²Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre tratamentos pelo teste χ^2 na análise de regressão logística.

A taxa de ovulação média foi similar à de 67,8 a 86,7% citada por Sá Filho et al. (2005) em novilhas Nelore submetidas a protocolos de IATF. Valores próximos também foram citados por Carvalho et al. (2008), trabalhando com protocolo de IATF similar ao deste estudo, que foram de 39,1; 84,0; e 72,7% em animais *B. indicus*, *B. indicus x B. taurus* e *B. taurus*, respectivamente.

Como os folículos crescem e passam pela fase de divergência folicular, há dependência decrescente de FSH e crescente de hormônio luteinizante (LH), para o crescimento, causada pelo aumento na quantidade de expressão de RNA mensageiro (RNAm) e do número de receptores de LH nas células da granulosa do folículo dominante (IRELAND et al., 1983; XU et al., 1995). Apesar de o folículo dominante depender mais de LH em comparação com o FSH para crescimento final e maturação, o nível de RNAm de receptores de FSH não se altera (XU et al., 1995), bem como a capacidade das células da granulosa de se ligarem ao FSH não varia significativamente com o tamanho folicular (RICHARDS et al., 1980). Assim, baixas concentrações de FSH no momento da divergência ainda são necessárias para a continuação do crescimento do maior folículo (BERGFELT et al., 2000). Isso indica que o FSH pode vir a exercer algum estímulo nos folículos dominantes, que foi a premissa do experimento. As novilhas tratadas com FSH-p tiveram taxas de prenhez superiores às das novilhas não tratadas (P<0,05; Tabela 3).

A taxa de prenhez foi similar às encontradas por Sá Filho et al. (2005), de 50,0% e 36,8%, para novilhas Nelore tratadas com eCG no dia 8 do protocolo de IATF ou não, respectivamente. Baruselli et al. (2003b), comparando a aplicação ou não de hormônio com efeito folículo estimulante, obtiveram taxas de 55,1 e 38,9%, respectivamente. Esse efeito também foi observado por Cavalieri e Fitzpatrick (1995) em novilhas *B. indicus*

(taxa de prenhez de 50%) com adição de eCG, quando retirados os implantes. Dessa forma, os resultados obtidos com o uso de FSH resultaram em taxa de prenhez satisfatória.

4. Conclusão

A administração de FSH-p em novilhas mestiças púberes associada a dispositivo de progesterona, benzoato de estradiol e prostaglandina em protocolo de sincronização de ovulação não influenciou a dinâmica folicular. No entanto, aumentou a taxa de prenhez.

5. Referências Bibliográficas

- AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v. 109, p. 77-87, 2008.
- BARUSELLI, P.S.; MADUREIRA, E.N.; BRAGA, D.P.A. et al. Efeito da administração de GnRH na taxa de ovulação em búfalas superovuladas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, p.549-52, 2001.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. Dinâmica folicular e taxa de prenhez em novilhas receptoras de embrião (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo “Ovsynch” para inovulação em tempo fixo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40 (Supl.), p.96-106, 2003a.
- BARUSELLI, P.S., MARQUES, M.O., NASSER L.F., REIS, E.L., BÓ, G.A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with cidr-b devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v. 59, n.1, p.214, 2003b.
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. et al. 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.
- BERGFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. et al. Follicular and hormonal response to experimental suppression of FSH during follicle deviation in cattle. **Theriogenology**, v.54, p.1191–206, 2000.

- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M. et al. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and oestradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, p.193–204, 1995.
- BORGES, A.M.; TORRES, C.A.A.; RUAS, J.R.M. et al. Dinâmica folicular ovariana em novilhas mestiças Holandês-Zebu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.53, n.5, p.1-13, 2001.
- BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E. et al. Day, Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrous and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. **Animal Reproduction Science**, v.66, p.161–174, 2001.
- CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L. et al. 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.
- CAVALIERI, J.; FITZPATRICK, L.A. Oestrus detection techniques and insemination strategies in *Bos indicus* heifers synchronized with norgestomet oestradiol. **Australian Veterinary Journal**, v.72, p.177-182, 1995.
- 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.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997.
- GARRETT, G.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T. et al. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.84, p. 437–446, 1988.
- GINTHER, O.J.; KNOPF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two or three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 1989.
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; MATOS, S.P.M. et al. Dominant follicle by ultrasound guided transvaginal aspiration and superovulatory response in Nelore cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.53-58, 2000.
- IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Development of non-ovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. **Endocrinology**, v.12, p.150–156, 1983.

- KNOPF, L.; KASTELIC, J.P.; SCHALLENBERGER, E. et al. Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. **Domestic Animal Endocrinology**, v.6, p.111-119, 1989.
- MANN, G.E.; FRAY, M.D.; LAMMING, G.E. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-t production in the cow. **Veterinary Journal**, v.171, p.500–503, 2006.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. The use of CIDR-B devices in GnRH/LH based artificial insemination programs. **Theriogenology**, v.53, p.202, 2000.
- MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, L. et al. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408, 2001.
- MUSSARD, M.L.; BURKE, C.R.; BEHLKE, E.J. et al. Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. **Journal of Animal Science**, v.85, p.937–943, 2007.
- OLIVEIRA, F.A.; NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação com benzoato de estradiol associado a suplemento de aminoácidos em novilhas da raça Nelore. In: 45^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008, Lavras, MG, **Anais...UFLA**, 2008a.
- OLIVEIRA, F.A.; NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. In: 45^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008, Lavras, MG, **Anais...UFLA**, 2008b.
- RICHARDS, J.S. Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. **Physiology Review**, v.60, p.51–89, 1980.
- ROELOFS, J. B.; GRAAT, E. A. M.; MULLAART, E. et al. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, p. 2173–2181, 2006.
- ROELOFS, J. B.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; SOEDE, N. M. et al. Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 63, p. 1366–1377, 2005.
- SÁ FILHO, M.F.; PENTEADO, L.; REIS, E.L. et al. Efeito da ciclicidade e do tratamento com eCG na dinâmica folicular e na taxa de concepção de novilhas Nelore tratadas com implante auricular de norgestomet e benzoato de estradiol. In:

XIX Reunião da SBTE, 2005, Angra dos Reis. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, p.265-265, 2005.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT: guide of personal computers. Version 9.0. Cary, 2002, 1v.

SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P. et al. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, p.663-671, 1988.

SMALL, G.A.; COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P. et al. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. **Theriogenology**, v.71, p.698–706, 2009.

SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, n.1, p.10-21, 2009.

VASCONCELOS, J.L.; SILCOX, R.W.; ROSA, G.J. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v.52, p.1067–1078, 1999.

VENERANDA, G.; FILIPPI, L.; RACCA, D. et al. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time AI protocols. **Reproduction and Fertility Development**, v.18, p.118, 2006.

XU, Z.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W. et al. Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. **Biology of Reproduction**, v.53, p.951–957, 1995.

Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) cíclicas e em anestro

Resumo: Objetivou-se avaliar a utilização do hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) quanto à dinâmica folicular e taxa de prenhez em vacas mestiças cíclicas e em anestro. Utilizaram-se 220 vacas em experimentos com delineamento fatorial 2x2 simultâneos, constituído de vacas cíclicas, Tcíclicas, e em anestro, Tanestro, e dois protocolos: 1) Tcontrole – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona (Primer[®]) mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]); dia 8 (D8), retirada do Primer[®] e aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α} (Prolise[®]); dia 9 (D9), foi aplicado (IM) 1 mg de benzoato de estradiol (Estrogin[®]); dia 10 (D10), a inseminação artificial (IA) foi realizada entre 48 e 54 horas após a retirada do Primer[®]; 2) TFSH – similar ao Tcontrole, sendo no dia 8 administrados 15 mg de FSH-p (Folltropin[®]). No experimento I, realizaram-se exames ultrassonográficos nos dias 0, 8, e na IATF até a determinação da ovulação das vacas submetidas aos tratamentos Tcíclicas+Tcontrole (n=11 vacas), Tanestro+Tcontrole (n=11 vacas), Tcíclicas+TFSH (n=12 vacas), Tanestro+TFSH (n=11 vacas). No experimento II, a avaliação da taxa de prenhez das vacas foi por tratamentos similares ao experimento I, diferindo pelo número de animais: Tcíclicas+Tcontrole (n=28), Tanestro+Tcontrole (n=55), Tcíclicas+TFSH (n=29), Tanestro+TFSH (n=63). Os dados foram analisados em fatorial 2x2 a 5% de probabilidade. Não houve efeito dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e da interação entre esses fatores para taxa de crescimento folicular (1,08±0,12 mm/dia), intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (57,26±0,78 e 9,26±0,78 horas, respectivamente; P>0,05). Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) para diâmetro do maior folículo (10,15±0,44 mm; P>0,05). Não houve interação dos efeitos principais para taxa de ovulação e prenhez e nem efeito dos protocolos (P>0,05). A taxa de ovulação e de prenhez foram maiores para as vacas cíclicas (91,39% e 54,39%), em relação às em anestro (63,64% e 24,58%; P<0,05). A administração de FSH-p não alterou os padrões de dinâmica folicular, nem as taxas de ovulação e de prenhez. Entretanto, a taxa de prenhez das vacas cíclicas foi satisfatória independente da administração do FSH-p.

Palavras-chave: biotecnologia, fertilidade de bovinos, folículo, hormônios

Follicle stimulating hormone (FSH-p) in the ovulation synchronization protocol of crossbred cows (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) cyclic and in anestrus

Abstract: The aim was to evaluate the use of the follicle stimulating hormone (FSH-p) in IATF protocols in terms of follicular dynamics and pregnancy rate in crossbred cows that are cyclic and in anestrus. Two hundred and twenty cows were used in the experiments with a simultaneous 2x2 factorial design, consisting of cyclic cows, Tcyclic, and in anestrus, Tanestrus, and two protocols: 1) Tcontrol – day 0 (D0), insertion of intravaginal progesterone device (Primer®) plus the injection (IM) of 2 mg of estradiol benzoate (Estrogen®); day 8 (D8), withdrawal of the Primer® and injection, IM, of 0.150 mg of PGF_{2α} (Prolise®); day 9 (D9), (IM) 1 mg of estradiol benzoate (Estrogen®) was applied; day 10 (D10), artificial insemination (IA) was carried out between 48 and 54 hours after the removal of the Primer; 2) TFSH – similar to the Tcontrol, where on day 8, 15 mg of FSH-p (Folltropin®) was administered. In experiment I, ultrasonography examinations occurred on days 0, 8, and on the IATF until ovulation was determined for the cows undergoing Tcyclic+Tcontrol (n=11 cows), Tanestrus+Tcontrol (n=11 cows), Tcyclic+TFSH (n=12 cows), Tanestrus+TFSH (n=11 cows) treatments. In experiment II, the evaluation of the pregnancy rate of the cows for treatments was similar to experiment I, differing in the number of animals: Tcyclic+Tcontrol (n=28), Tanestrus+Tcontrol (n=55), Tcyclic+TFSH (n=29), Tanestrus+TFSH (n=63). The data were analyzed in a 2x2 factorial to 5 % probability. There was no effect of the synchronization protocols, of the cyclicity of the cows and of the interaction between these factors for follicular growth rate (1.08±0.12 mm / day), the interval of the removal of the progesterone device and the IATF to ovulation (57.26±0.78 and 9.26±0.78 hours, respectively; P> 0.05). There was no interaction among any of the evaluated effects (treatment, cyclicity, day of observation; P> 0.05) for the diameter of the largest follicle (10.15 ±0.44 mm). There was no interaction of the principal effects for ovulation and pregnancy rate and not even an effect on the protocols (P> 0.05). The ovulation and pregnancy rate were greater for the cyclic cows (91.39 % and 54.39 %), in relation to those in anestrus (63.64 % and 24.58 %; P<0.05). In the cows, the administration of FSH-p did not alter the follicular dynamics patterns, the ovulation and pregnancy rates, while the pregnancy rate of the cyclic cows was satisfactory independent of the FSH-p administration.

key words: biotechnology, bovine fertility, follicle, hormones

1. Introdução

A fertilidade do período pós-parto é influenciada negativamente pela incidência de anestro, que é caracterizada pela ausência também de comportamento sexual, indicando condições subótimas (nutrição inadequada peri-parto) ou condições patológicas (doenças crônicas debilitantes do útero e, ou, ovário). A duração do anestro no pós-parto influencia diretamente no desempenho reprodutivo, permitindo que animais subfêrteis e improdutivos permaneçam na propriedade (NEVES et al., 1999; YAVAS; WALTON, 2000).

A alternativa para melhorar as taxas de prenhez em vacas no pós-parto é a utilização de programas hormonais para induzir a ciclicidade e minimizar os efeitos ambientais e da amamentação, incrementando, assim, a produtividade desse setor do agronegócio. As associações hormonais adotadas nos protocolos de sincronização de estro e ovulação, bem como o efeito na dinâmica folicular, permitem adequar os programas a diferentes situações e possibilitam a atuação conjunta para o desenvolvimento de novas biotecnologias.

Em vacas lactantes submetidas a programas de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), independentemente do indutor da ovulação utilizado, as taxas de prenhez têm oscilado entre 25 e 67% (FIKE et al., 1997; STEVENSON et al., 2000; FERNANDES et al., 2001; GEARY et al., 2001; BARUSELLI et al., 2002; MARTINEZ et al., 2002ab; BARUSELLI et al., 2004; NASCIMENTO, 2005; KASIMANICKAM et al., 2006). Esses resultados variam em função da porcentagem de animais em anestro no rebanho, com as condições ambientais e nutricionais e, também, com a associação hormonal utilizada.

O hormônio foliculo estimulante (FSH-p), quando administrado, estimula o crescimento folicular até o estágio pré-ovulatório, crescendo continuamente durante três dias (KENNY et al., 2006). Assim, parte-se da premissa de que a utilização do FSH-p em protocolos de IATF aumenta o crescimento do foliculo ovulatório e, consequentemente, eleva a taxa de prenhez.

Objetivou-se, neste estudo, avaliar a utilização do hormônio foliculo estimulante (FSH-p) em protocolos de IATF na dinâmica folicular e na taxa de prenhez de vacas mestiças cíclicas e em anestro.

2. Material e Métodos

O experimento foi realizado nos meses de fevereiro a maio de 2009, em propriedade situada no Município de Dores do Rio Preto, Estado do Espírito Santo, nas coordenadas geográficas de 20°41' Sul, 41°50' Oeste e 774 m de altitude. A propriedade localizava-se em região com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos, com clima tropical de altitude. A temperatura média anual é de 19,2 °C e a precipitação pluviométrica, de 1.000 mm anuais.

Foram utilizadas 220 vacas, apresentando histórico de boa fertilidade, ausência de sinais clínicos de doença infecciosa ou metabólica e de alterações dos órgãos genitais ao exame ginecológico. As vacas tinham de 45 a 75 dias pós-parto. O manejo das vacas foi em regime extensivo, utilizando-se a pastagem principalmente de braquiarião (*Brachiaria brizantha* vc. Marundu). As vacas receberam sal mineral e água *ad libitum*.

Na inserção do dispositivo, registrou-se o período pós-parto relativo ao dia da IATF (dia 10), pesaram-se as vacas (PV, kg) e determinou-se a condição corporal (CC, escala de 1 a 5), de acordo com a tabela proposta por Edmonson et al. (1989). As vacas apresentaram peso corporal médio de 393,62±2,09 kg e condição corporal com o escore médio de 2,88±0,01.

Foram realizados dois experimentos em delineamento fatorial 2 x 2 simultâneos (ciclicidade das vacas e protocolo de sincronização). No experimento I, foram feitos os exames da dinâmica folicular e, no experimento II, avaliada a eficiência reprodutiva das fêmeas. A ciclicidade das vacas correspondeu às vacas cíclicas (Tcíclicas) e em anestro (Tanestro) e os protocolos de ovulação, à utilização (TFSH) ou não (Tcontrole) de FSH. A condição fisiológica das vacas foi determinada no início dos experimentos pela presença de corpo lúteo (vacas cíclicas) ou ausência (vacas em anestro) por palpação e exame de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (Aloka[®], modelo SSD500).

No experimento I, as vacas cíclicas (23 vacas) e em anestro (22 vacas) foram distribuídas em dois protocolos de sincronização da ovulação: 1) Tcontrole (n = 22 vacas) – dia 0 (D0), inserção de dispositivo intravaginal de progesterona⁵ (DIP) mais aplicação (IM) de 2 mg de benzoato de estradiol⁶; dia 8 (D8), retirada do DIP e

⁵1,0 g de Progesterona, PRIMER[®], Tecnopec, Brasil.

⁶1 mg/mL de benzoato de estradiol, Estrogin[®], Farmavet Produtos Veterinarios Ltda., Brasil.

aplicação, IM, de 0,150 mg de PGF_{2α}⁷; dia 9 (D9), aplicação (IM) e 1 mg de benzoato de estradiol; dia 10 (D10), realizada a inseminação artificial (IA) entre 48 e 54 horas após a retirada do DIP; 2) TFSH (n = 23 vacas) – similar ao Tcontrole, sendo no dia 8 administrados 15 mg de FSH-p⁸ (Folltropin[®]). Assim, a distribuição das vacas foi 11, 11, 12 e 11 nos tratamentos Tcíclicas+Tcontrole, Tanestro+Tcontrole, Tcíclicas+TFSH e Tanestro+TFSH, respectivamente.

Os exames ultrassonográficos foram realizados nos dias 0 e 8 e no dia da IATF, sendo neste dia feito acompanhamento da dinâmica folicular até a determinação da ovulação pela ausência do folículo dominante, com um aparelho portátil de ultrassom acoplado a um transdutor linear retal de 5,0 MHz (Aloka[®], modelo SSD500). Assim, foi verificado no D0 o *status* folicular, e nos dias 8, 10 e deste até a ovulação, com intervalo de 12 horas, avaliadas a dinâmica folicular e a taxa de ovulação. Os folículos foram classificados de acordo com o diâmetro: pequenos (FP<6 mm), médios (FM de 6 a 8 mm) e dominantes (FD>8 mm). Calculou-se a taxa de crescimento (mm/dia) pela diferença entre os diâmetros do folículo nos dias 10 e 8, dividido pelo número de dias.

No experimento II, as vacas foram distribuídas uniformemente pelo peso e condição corporal nos tratamentos propostos no experimento I: Tcíclicas+controle = 28 vacas, Tanestro+controle = 55 vacas; Tcíclicas+FSH = 29 vacas; Tanestro+FSH = 63 vacas.

As inseminações artificiais foram realizadas pelo mesmo técnico, utilizando sêmen de touros da raça Girolando de Central de sêmen associada à Associação Brasileira de Inseminação Artificial ASBIA.

O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após a inseminação artificial por palpação retal, sendo determinada a taxa de prenhez de cada tratamento (número de vacas prenhes dividido pelo número total de vacas do tratamento).

Todos os dados foram analisados no programa SAS, versão 9.0 (2002), a 5% de probabilidade, em fatorial 2 x 2 (ciclicidades das vacas e dois protocolos de sincronização da ovulação). A taxa de crescimento, o diâmetro do maior folículo no dia 10 e o intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação foram avaliados por análise de variância, considerando-se o efeito dos tratamentos. O número médio de folículos por vaca foi analisado em parcela subdividida, levando-se em conta o efeito dos protocolos de sincronização nas parcelas, a ciclicidade das vacas na

⁷0,75 mg/mL d-cloprostenol, Prolise[®], ARSA S.R.L., Argentina.

⁸20 mg/mL NIH-FSH-P1, Folltropin[®]-V, Bioniche AnIMal Health Canadá Inc., Canadá.

subparcela e o dia de observação na subsubparcela, em comparação com médias pelo teste de Tukey. Porém, as variáveis qualitativas (classe folicular e taxas de prenhez e de ovulação) foram analisadas por análise de regressão logística, considerando-se o efeito dos tratamentos em fatorial. Para a classe folicular, consideraram-se, ainda, o efeito do dia de observação e a interação dos tratamentos e o dia de observação.

3. Resultados e Discussão

Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) na classificação folicular ($P>0,05$) nem efeito dos protocolos e dos dias de observação ($P>0,05$; Tabela 1).

Tabela 1 – Classificação folicular em função do protocolo de sincronização da ovulação, da ciclicidade das vacas e do dia de observação

Item ¹	Diâmetro folicular (mm)		
	<6	6 a 8	>8
	Protocolo²		
Tcontrole	91,87 (791/861) ^a	3,95 (34/861) ^a	4,18 (36/861) ^a
TFSH	91,20 (808/886) ^a	3,50 (31/886) ^a	5,30 (47/886) ^a
	Ciclicidade²		
Tcíclica	90,02 (857/952) ^b	4,73 (45/952) ^a	5,25 (50/952) ^a
Tanestro	93,33 (742/795) ^a	2,52 (20/795) ^b	4,15 (33/795) ^a
	Dia²		
0	92,38 (473/512) ^a	4,49 (23/512) ^a	3,13 (16/512) ^a
8	90,02 (550/611) ^a	4,42 (27/611) ^a	5,56 (34/611) ^a
10	92,31 (576/624) ^a	2,40 (15/624) ^a	5,29 (33/624) ^a

¹Tcontrole = tratamento-controle; TFSH = tratamento com FSH; Tcíclicas = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ²Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si, pelo teste χ^2 , na análise de regressão logística ($P<0,05$).

Com relação à ciclicidade, as vacas cíclicas apresentaram menor percentual de folículos pequenos ($P<0,05$) e maior de médios ($P<0,05$), não diferindo entre os folículos de diâmetro superior a 8 mm ($P>0,05$). Pôde ser observado, também, menor número de folículos totais nas vacas em anestro, o que pode ser devido às alterações hormonais em vacas em anestro. A dinâmica folicular de fêmeas nessa condição fisiológica caracteriza-se por emergência folicular e atresia ou crescimentos foliculares, resultando em não ovulação, de forma que o desvio do folículo ocorre, mas não chega

às fases finais de desenvolvimento devido à baixa frequência de pulsos de hormônio luteinizante (WILTBANK et al., 2002).

Não houve efeito dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e da interação entre esses fatores para taxa de crescimento folicular, intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação ($P>0,05$; Tabela 2), demonstrando que a utilização de FSH não afeta a taxa de crescimento folicular. A taxa de crescimento folicular média encontrada foi inferior à relatada por Gradela et al. (2000) em vacas Nelore tratadas com FSH-p e superior àquela encontrada por Santos et al. (2007b), trabalhando com vacas Nelore, com protocolo de IATF similar ao utilizado neste estudo, que foram de 0,73; 0,72; e 0,78 mm/dia, para tratamento-controle, 10 mg de FSH-p e 20 mg de FSH-p, respectivamente.

Tabela 2 – Taxa de crescimento folicular e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação (média±erro-padrão), em função dos protocolos de sincronização e da ciclicidade das vacas

Item	Taxa de crescimento folicular (mm/dia)	Intervalo à ovulação	
		Retirada do dispositivo de progesterona (h)	IATF (h)
Protocolo¹			
Tcontrole	1,07±0,18	57,50±1,21	9,50±1,21
TFSH	1,13±0,16	56,88±1,05	8,88±1,05
Média	1,08±0,12	57,26±0,78	9,26±0,78
Valor-P ²	0,8014	0,6999	0,6999
Ciclicidade²			
Tcíclicas	0,98±0,16	57,75±1,02	9,75±1,02
Tanestro	1,21±0,18	56,63±1,24	8,63±1,24
Média	1,08±0,12	57,26±0,78	9,26±0,78
Valor-P ²	0,3389	0,4890	0,4890

¹TControle = tratamento-controle; e TFSH = tratamento com FSH. ²Tcíclicas = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ²Nível descritivo de probabilidade do erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre tratamento pelo teste F.

Os intervalos da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação e da IATF à ovulação foram inferiores aos relatados por Santos et al. (2007b), entretanto corroboram os reportados por Oliveira et al. (2008), de 51,4 a 62,2 horas e de 3,4 a 14,2 horas, para retirada do dispositivo à ovulação e da IATF à ovulação, respectivamente. Foi verificado que, no oócito, o melhor período para a fertilização é entre 6 e 10 h após a ovulação (AYRES et al., 2008). Adicionalmente, Roelofs et al. (2005) demonstraram

que a probabilidade de ocorrer concepção diminui à medida que a IA se aproxima do momento da ovulação. O momento ideal para obter grandes taxas de fertilização varia de 24-12 h antes da ovulação e 16-12 h para obter maior porcentagem de embriões de alta qualidade (89% de embriões recuperados; ROELOFS et al., 2006). Assim, esse pequeno intervalo da IATF à ovulação pode ter prejudicado a taxa de prenhez.

Houve interação do tratamento e da ciclicidade quanto ao número de folículos ($P < 0,05$; Tabela 3). Observou-se que somente houve diferença entre as vacas que foram sincronizadas com o protocolo-controle com menor número de folículos nos animais em anestro (10,94 *versus* 15,15; $P < 0,05$), causado pelo fato de os animais não apresentarem estímulos hormonais para desenvolvimento folicular. Outro fator a ser considerado é o fato de os animais em anestro possuírem menor produção de hormônio do crescimento, consequentemente de IGF-1, e maior concentração de IGFBP, que se liga ao IGF-1, diminuindo a resposta. Alguns autores relataram que o número de folículos na onda de emergência folicular está positivamente correlacionado com as concentrações circulantes de IGF-1, pois as vacas tratadas com hormônio do crescimento (estimulador de IGF-1) aumentam a quantidade de folículos durante a emergência folicular (GONG et al., 1996). Oliveira et al. (2008), trabalhando com sincronização de ovulação com protocolos hormonais associados à administração de FSH-p em vacas Nelore, também não observaram diferença de quantidade média de folículos por animal ($P > 0,05$), tendo uma média de 11,93, número similar ao verificado neste estudo.

Tabela 3 – Número de folículos (média±erro-padrão), em função dos tratamentos e da ciclicidade das vacas

Item ¹	Ciclicidade ^{2,3}	
	Tcíclicas	Tanestro
Tcontrole	15,15±1,19 ^{aA}	10,94±1,19 ^{bA}
TFSH	12,56±1,14 ^{aA}	13,15±1,19 ^{aA}

¹Tcontrole = tratamento controle; e TFSH = tratamento com FSH. ²Tcíclicas = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ³Médias seguidas por letras minúsculas ou maiúsculas diferentes na mesma linha e coluna, respectivamente, diferem entre si, pelo teste F ($P < 0,05$).

Não houve interação dos efeitos principais e do dia de observação sobre número de folículos ($P > 0,05$; Tabela 4). No dia da colocação do dispositivo de progesterona (dia 0), havia menor número de folículos ($P < 0,05$), enquanto no momento da retirada do dispositivo (dia 8) e no dia da IATF (dia 10) esse número não diferiu ($P > 0,05$). Assim, evidencia-se que as condições fisiológicas proporcionadas pela administração da progesterona exógena até o dia 8 aumentaram o número de folículos em crescimento. O

menor número de folículos no dia 0 em relação aos dias 8 e 10 pode ser devido, naquele dia, ao fato de os animais não apresentarem estímulos hormonais suficientes para aumentar o número de folículos em desenvolvimento.

Tabela 4 – Número de folículos (média±erro-padrão), em função do dia de observação

Item	Dia ¹		
	0	8	10
Número de folículos (vacas/dia)	11,38±0,79b	13,58±0,79a	13,89±0,79a

¹Médias seguidas por letras minúsculas ou maiúsculas diferentes, na mesma linha e coluna, respectivamente, diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve interação de nenhum dos efeitos avaliados (tratamento, ciclicidade, dia de observação) sobre diâmetro do maior folículo e do segundo maior (P>0,05; Tabela 5). O tratamento com FSH não aumentou o tamanho do folículo ovulatório 48 horas depois da retirada do dispositivo de progesterona, ou seja, no dia 10. Esses resultados corroboram os estudos preliminares realizados com gado de corte (BARUSELLI et al., 2004; SMALL et al., 2009) e gado leiteiro (VENERANDA et al., 2006; SOUZA et al., 2009), nos quais se utilizaram o hormônio eCG devido à sua ação folículo-estimulante em bovinos. A aplicação de 400 UI de ECG em vacas holandesas não alterou o diâmetro do folículo ovulatório (VENERANDA et al., 2006). No entanto, em outros estudos o tratamento com eCG na retirada do dispositivo de progesterona aumentou o diâmetro do folículo ovulatório em bovinos de corte em anestro (SÁ FILHO et al., 2004; MARANÃ et al., 2006).

A média do diâmetro do maior folículo no dia 10 foi similar à relatada por Figueiredo et al. (1997) em vacas *Bos taurus indicus*, inferior à constatada por Gradela et al. (2000) em vacas Nelore tratadas com FSH e por Savio et al. (1988) e Murphy et al. (1990) em vacas *Bos taurus taurus*, sendo inferior também a diâmetros do maior folículo no dia 10 de vacas Nelore submetidas a protocolo de IATF similar ao utilizado neste estudo, que foram de 12,8; 12,9; e 12,9 mm, para tratamento-controle, 10 µg e 20 µg de FSH-p, respectivamente (SANTOS et al., 2007b). Entretanto, neste estudo também não houve diferença do FSH-p no diâmetro do maior folículo.

Tabela 5 – Diâmetro do maior folículo e do segundo maior (média±erro-padrão), em função dos protocolos de sincronização, da ciclicidade das vacas e do dia de observação

Item ¹	Diâmetro folicular (mm)	
	Maior folículo	Segundo maior folículo
	Protocolo²	
Tcontrole	8,57±0,53 ^a	5,15±0,14 ^a
TFSH	8,55±0,52 ^a	5,15±0,14 ^a
	Ciclicidade²	
Tcíclicas	9,01±0,52 ^a	5,36±0,14 ^a
Tanestro	8,11±0,53 ^a	4,95±0,14 ^b
	Dia³	
0	6,92±0,44 ^c	5,02±0,17 ^a
8	8,61±0,44 ^b	5,31±0,17 ^a
10	10,15±0,44 ^a	5,11±0,17 ^a

¹TControle = tratamento-controle; TFSH = tratamento com FSH; Tcíclicas = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ²Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (P<0,05). ³Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si, pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve interação dos efeitos principais de taxa de ovulação e prenhez nem efeito dos protocolos (P>0,05). Entretanto, tanto a taxa de ovulação quanto a de prenhez foram maiores nas vacas cíclicas (P<0,05; Tabela 6). Bryan et al. (2008) relataram que o tratamento com eCG aumentou as taxas de concepção em vacas não cíclicas, devido ao seu efeito folículo estimulante, o que não condiz com os resultados deste estudo, em que a aplicação de FSH não promoveu melhoras na taxa de concepção de vacas em anestro (P>0,05). O tratamento com FSH, no momento da retirada do dispositivo de progesterona, não é indicado em rebanhos bovinos; ao contrário do eCG, recomendado para rebanhos que têm elevada porcentagem de vacas em anestro (BÓ et al., 2003; BARUSELLI et al., 2004). Uma das suposições dos melhores resultados do eCG em outros estudos é causada por possuir concentração de LH. É amplamente conhecido que vacas em anestro têm baixas concentrações sanguíneas de LH (WILTBANK et al., 2002). Assim, as diferenças no efeito do FSH em relação ao eCG no tamanho do folículo e nas taxas de ovulação e prenhez podem estar relacionadas às diferenças entre as concentrações de LH no sangue das vacas.

Baruselli et al. (2004) concluíram que a melhora da fertilidade depois do tratamento com eCG foi devida ao aumento na porcentagem de vacas que ovularam após os protocolos de IATF, bem como ao aumento da progesterona circulante nos ciclos subsequentes, talvez minimizando as perdas embrionárias precoces. Os resultados desses experimentos contrariaram os obtidos por Santos et al. (2007a), em que uma

única dose de FSH-p aumentou a taxa de ovulação quando comparada com a do grupo-controle.

Tabela 6 – Taxa de prenhez e ovulação, em função dos tratamentos

	Taxa de ovulação (%)	Taxa de prenhez (%)
	Protocolo¹	
Tcontrole	68,18 (15/22)	33,73 (28/83)
TFSH	86,96 (20/23)	34,78 (32/92)
Valor-P ³	0,1331	0,9605
	Ciclicidade²	
Tcíclicas	91,30 (21/23)	54,39 (31/57)
Tanestro	63,64 (14/22)	24,58 (29/118)
Valor-P ³	0,0089	<0,0001

¹TControle = tratamento-controle; e TFSH = tratamento com FSH. ²Tcíclicas = tratamento com vacas cíclicas; e Tanestro = tratamento com vacas em anestro. ³Nível descritivo de probabilidade para o erro tipo I associado à hipótese de nulidade relacionada à ausência de diferença entre tratamentos pelo teste χ^2 na análise de regressão logística.

A taxa de prenhez total foi de 34,29% (n =175). As vacas em anestro apresentaram menor taxa de prenhez (24,58%), em comparação com aquelas que se apresentavam ciclando (54,39%; P<0,05). Em contrapartida, não foi verificado efeito quanto ao uso de FSH no dia 8 (P>0,05), sendo as taxas de prenhez de 33,73% e 34,78% para Tcontrole e TFSH, respectivamente. Houve efeito positivo da ciclicidade dos animais, mas não quanto à utilização do FSH sobre a taxa de prenhez. Entretanto, Oliveira et al. (2008) não encontraram diferença na taxa de prenhez entre os animais tratados com eCG ou FSH-p, no dia 8, com um protocolo similar ao usado neste estudo.

Sá Filho et al. (2009) relataram que o eCG é superior ao FSH-p para estimular a taxa de ovulação e de prenhez em vacas Nelore, contrariando os resultados de Santos et al. (2007a), que reportaram não haver diferença utilizando FSH-p e eCG em vacas *Bos indicus* em anestro submetidas à IATF. Sá Filho et al. (2009) também relataram que o eCG tem efeito de FSH como de LH, e meia-vida mais longa, mantendo-se ativo no sangue por mais tempo, de cinco a sete dias após a administração (MURPHY; MARTINUK, 1991; SIDDIQUI et al., 2002). Já o Folltropin-V contém 87% de FSH (MAPLETOFT; PIERSON, 1993), e seu metabolismo parece ser rápido, visto que, após a administração intramuscular, a meia-vida e o desaparecimento do FSH foram estimados em 5 h e 10 a 12 h, respectivamente (DEMOSTIER et al., 1988). Essas diferenças de meia-vida entre eCG e FSH estão relatadas em estudos de protocolos

superovulatórios, em que a dose única de eCG intramuscular é suficiente para estimular o crescimento de múltiplos folículos (BARUSELLI et al., 2006; SENDAG et al., 2008), enquanto para superovular uma vaca com FSH é necessário utilizar várias administrações intramusculares (BARROS; NOGUEIRA, 2001), ou única dose intramuscular com veículos de liberação lenta (YAMAMOTO et al., 1993), ou uma dose subcutânea (BÓ et al., 1994). Assim, o efeito do tratamento encontrado com a utilização do FSH pode ser devido a uma dosagem insuficiente neste estudo e, ou, devida à meia-vida curta do FSH, que não permaneceu por tempo suficiente na circulação para estimular o folículo em desenvolvimento.

4. Conclusão

A administração de FSH-p em protocolo de sincronização de ovulação em vacas mestiças não apresentou diferenças marcantes nos padrões avaliados de dinâmica folicular. As vacas cíclicas exibiram taxa de prenhez satisfatória, independentemente da administração do FSH-p, que não aumentou essa taxa em vacas em anestro.

5. Referências Bibliográficas

- ALVES, N.G.; COSTA, E.P.; GUIMARÃES, J.D. et al. Atividade ovariana em fêmeas bovinas da raça holandesa e mestiças holandês x zebu, durante dois ciclos estrais normais consecutivos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, n.2, 2002.
- AYRES, H.; MARTINS, C. M.; FERREIRA, R. M. et al. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science**, v. 109, p. 77-87, 2008.
- BARROS, C.M.; NOGUEIRA, M.F.G. Embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.56, p.1483–96, 2001.
- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; CARVALHO, N.A.T. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.26, p.218-221, 2002.
- BARUSELLI, P.S.; REIS E.L.; MARQUES, M.O. et al. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82/83, p.479–86, 2004.

- BARUSELLI, P.S.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M. et al. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. **Theriogenology**, v.65, p.77–88, 2006.
- BÓ, G.A.; HOCKLEY, D.K.; NASSER, L.F. et al. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. **Theriogenology**, v.42, p.963–975, 1994.
- BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos Indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.307-326, 2003.
- BRYAN, M.A.; EMSLIE, R.; HEUER, C. Comparative efficacy of an 8-day Cue-Mate/estradiol benzoate program with or without inclusion of equine chorionic gonadotropin in anestrus dairy cows. **Reproduction, Fertility and Development**, v.20, p.85, 2008.
- DEMOSTIER, M.M.; BECKERS, J.F.; VAN DER ZWALMEN, P. et al. Determination of porcine plasma folltropin levels during superovulation treatment in cows. **Theriogenology**, v.30, p.379–386, 1988.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.72, n.1, p.68-78, 1989.
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L. et al. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997.
- FERNANDES, P.; TEIXERIA, A.B.; CROCCI, A.J. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist PGF_{2α} and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.55, p.1521-1532, 2001.
- FIKE, K.E.; DAY, M.L.; INSKEEP, E.K. et al. Estrus and luteal function in suckled beef cows that were anestrous when treated with an intravaginal device containing progesterone with or without a subsequent injection of estradiol benzoate. **Journal of Animal Science**, v.75, p.2009–2015, 1997.
- GEARY, T.W.; WHITTIER, J.C.; HALLFORD, D.M. et al. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. **Journal of Animal Science**, v.79, p.1-4, 2001.
- GONG, J.G.; WILMUT, I.; BRAMLEY, T.A. et al. Pretreatment with recombinant bovine somatotropin enhances the superovulatory response to FSH in heifers. **Theriogenology**, v.45, p.611–22, 1996
- GRADELA, A.; ESPER, C.R.; MATOS, S.P.M. et al. Dominant follicle by ultrasound guided transvaginal aspiration and superovulatory response in Nelore cows. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, p.53-58, 2000.

- KASIMANICKAM, R.; COLLINS, J.C.; WUENSCHHELL, J. et al. Effect of timing of prostaglandin administration, controlled internal drug release removal and gonadotropin releasing hormone administration on pregnancy rate in fixed-time AI protocols in crossbred Angus cows. **Theriogenology**, v.66, p.166-172, 2006.
- KENNY, A.L.; PHILLIPS, N.J.; D'OCCHIO, M.J. Ovarian follicular response to repeat stimulation with FSH and oocyte recovery and quality in Brahman heifers treated with a GnRH agonist. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v.64, p.456, 2006.
- MAPLETOFT, R.J.; PIERSON, R.A. Factors affecting superovulation in the cow: practical considerations. **Embryo Transfer News**, v.11, p.15–24, 1993.
- MARAÑA, D.; CUTAIA, L.; PERES, L. et al. Ovulation and pregnancy rates in postpartum *Bos indicus* cows treated with progesterone vaginal inserts and estradiol benzoate, with or without eCG and temporary weaning. **Reproduction, Fertility and Development**, v.18, p.116–117, 2006.
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Theriogenology**, v.57, p.1049-1059, 2002a
- MARTINEZ, M.F.; KASTELIC, J.P.; ADAMS, G.P. et al. The use of a progesterone-releasing device (CIDR) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1746-1751, 2002b.
- MURPHY, B.D.; MARTINUK, S.D. Equine chorionic gonadotropin. **Endocrinology Review**, v.12, p.1305–1319, 1991.
- MURPHY, M.G.; BOLAND, M.P.; ROCHE, J.F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef sucler cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.90, p.523-33, 1990.
- NASCIMENTO, V.A. Avaliação de protocolos hormonais para Inseminação Artificial em Tempo Fixo em vacas lactantes da raça nelore. 2005. 118f. **Dissertação** (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2005.
- NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; OLIVEIRA, J.F.C. Fatores que afetam a eficiência reprodutiva na vaca. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.99-105, 1999.
- OLIVEIRA, F.A.; NASCIMENTO, V.A.; TORRES, C.A.A. et al. Dinâmica folicular na sincronização de ovulação associado à administração de FSH-p em vacas da raça Nelore. In: 45ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2008, Lavras, MG, **Anais...** UFLA, 2008.

- ROELOFS, J. B.; GRAAT, E. A. M.; MULLAART, E. et al. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, p. 2173–2181, 2006.
- ROELOFS, J. B.; VAN EERDENBURG, F. J. C. M.; SOEDE, N. M. et al. Various behavioral signs of estrus and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 63, p. 1366–1377, 2005.
- SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; VIEL JR., J.O. et al. Follicular dynamics in anestrous lactating Nelore treated with ear implant, eCG and GnRH. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.235, 2004.
- SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G. et al. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-218, 2009.
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; VALENTIM, R. et al. Pregnancy rate in FTAI anestrous *Bos indicus* cows treated with a single dose of FSH-p (Folltropin). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35(Suppl 3), p.1151, 2007^a.
- SANTOS, I.C.C.; MARTINS, C.M.; BARUSELLI, P.S. et al. Estudo da dinâmica folicular de vacas nelore (*Bos indicus*) em anestro sincronizadas com protocolo IATF, utilizando Folltropin[®] (FSH-p) como indutor de crescimento folicular. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35(Supl. 3), p.1152, 2007^b.
- SAS INSTITUTE. SAS/STAT: guide of personal computers. Version 9.0. Cary, 2002, 1v.
- SAVIO, J.D.; KEENAN, L.; BOLAND, M.P. et al. Pattern of growth of dominant follicles during the estrous cycle of heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.83, p.663-671, 1988.
- SENDAG, S.; CETIN, Y.; ALAN, M. et al. Effects of eCG and FSH on ovarian response, recovery rate and number and quality of oocytes obtained by ovum pick-up in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.106, p.208–214, 2008.
- SIDDIQUI, M.A.R.; SHAMSUDDINM, A.; BHUIYAN, M.U. et al. Effect of feeding and body condition score on multiple ovulation and embryo production in zebu cows. **Reproduction Domestic Animal**, v.37, p.37–41, 2002.
- SMALL, G.A.; COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P. et al. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. **Theriogenology**, v.71, p.698–706, 2009.
- SOUZA, A.H.; VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A. et al. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, n.1, p.10-21, 2009.

STEVENSON, J.S.; THOMPSON, K.E.; FORBES, W.L. et al. Synchronizing estrus and (or) ovulation in beef cows after combinations of GnRH, norgestomet, and prostaglandin F_{2α} with or without timed insemination. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1747-1758, 2000.

VENERANDA, G.; FILIPPI, L.; RACCA, D. et al. Pregnancy rates in dairy cows treated with intravaginal progesterone devices and different fixed-time AI protocols. **Reproduction and Fertility Development**, v.18, p.118, 2006.

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

YAMAMOTO, M.; SUZUKI, T.; OOE, M. et al. Superovulation in beef cows and heifers with a single injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. **Journal of Reproduction and Development**, v.39, p.353–356, 1993.

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

4. CONCLUSÕES GERAIS

A administração de FSH-p em novilhas mestiças púberes associada a dispositivo de progesterona, benzoato de estradiol e prostaglandina em protocolo de sincronização de ovulação não influenciou a dinâmica folicular. No entanto, aumentou a taxa de prenhez.

A administração de FSH-p em protocolo de sincronização de ovulação em vacas mestiças não apresentou diferenças marcantes nos padrões avaliados de dinâmica folicular. As vacas cíclicas exibiram taxa de prenhez satisfatória, independentemente da administração do FSH-p, que não aumentou essa taxa em vacas em anestro.

Independentemente, mais estudos são necessários para explicar a fisiologia subjacente a utilização do FSH-p para melhorar a fertilidade em protocolos de IATF, principalmente em animais em anestro, esses devem comparar tratamentos com diferentes doses de FSH-p, e também levar em conta a forma de aplicação e o veículo do produto aplicado para se compreender melhor a ação do FSH nos protocolos de IATF.

APÉNDICE

Análises estatísticas do primeiro artigo

Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de novilhas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) púberes

Quadro 1 - Análise de variância para número de folículos em novilhas

Fonte de variação	Gl	Valor F	P>F
Tratamento	1	0,01	0,9181
Erro (a)	20		
Dia	2	6,44	0,0037
Dia*tratamento	2	0,59	0,5610
Erro (b)	40		
Total	65		

Quadro 2 - Comparação do número de folículos em função do dia de observação em novilhas

Dia	Dia	P>F
0	8	0,5860
0	10	0,0060
8	10	0,0003

Quadro 3 - Análise de regressão logística para classificação folicular em novilhas

Fonte de variação	Gl	Valor χ^2	P> χ^2
Folículo com diâmetro <6 mm			
Tratamento	1	0,07	0,7942
Dia	2	0,54	0,7637
Dia*tratamento	2	0,66	0,7185
Folículo com diâmetro 6 a 8 mm			
Tratamento	1	0,11	0,7370
Dia	2	1,04	0,5936
Dia*tratamento	2	0,15	0,9292
Folículo com diâmetro > 8 mm			
Tratamento	1	0,01	0,9315
Dia	2	2,00	0,3683
Dia*tratamento	2	0,45	0,7976

Quadro 4 - Análise de variância para taxa de crescimento, diâmetro do maior folículo no dia 10 e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação em novilhas

Fonte de variação	Gl	Valor F	P>F
Taxa de crescimento folicular			
Tratamento	1	3,05	0,1001
Erro	16		
Total	17		
Diâmetro do maior folículo			
Tratamento	1	0,52	0,4779
Erro	20		
Total	21		
Intervalo da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação			
Tratamento	1	1,23	0,2837
Erro	16		
Total	17		
Intervalo da IATF à ovulação			
Tratamento	1	1,23	0,2837
Erro	16		
Total	17		

Quadro 5 - Análise de regressão logística para taxa de ovulação e de prenhez em novilhas

Fonte de variação	Gl	Valor χ^2	P> χ^2
Taxa de ovulação			
Tratamento	1	0,00	1,0000
Taxa de prenhez			
Tratamento	1	4,78	0,0289

Análises estatísticas do segundo artigo

Hormônio folículo estimulante (FSH-p) em protocolo de sincronização da ovulação de vacas mestiças (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) cíclicas e em anestro

Quadro 1 - Análise de regressão logística para classificação folicular em vacas

Fonte de variação	Gl	Valor χ^2	P > χ^2
Folículo com diâmetro <6 mm			
Protocolo	1	0,36	0,5495
Ciclicidade	1	6,02	0,0141
Protocolo*ciclicidade	1	0,05	0,8264
Dia	2	2,17	0,3374
Dia*protocolo	2	0,46	0,7957
Dia*ciclicidade	2	0,26	0,8778
Dia*protocolo*ciclicidade	2	0,38	0,8267
Folículo com diâmetro 6 a 8 mm			
Protocolo	1	0,01	0,9381
Ciclicidade	1	5,23	0,0222
Protocolo*ciclicidade	1	0,05	0,8234
Dia	2	4,12	0,1275
Dia*protocolo	2	0,28	0,8703
Dia*ciclicidade	2	0,74	0,6895
Dia*protocolo*ciclicidade	2	0,37	0,8302
Folículo com diâmetro > 8 mm			
Protocolo	1	0,98	0,3216
Ciclicidade	1	1,61	0,2047
Protocolo*ciclicidade	1	0,17	0,6775
Dia	2	4,96	0,0836
Dia*protocolo	2	0,05	0,9730
Dia*ciclicidade	2	0,34	0,8448
Dia*protocolo*ciclicidade	2	0,07	0,9639

Quadro 2 - Análise de variância para taxa de crescimento, diâmetro do maior folículo no dia 10 e intervalo da retirada do dispositivo de progesterona e da IATF à ovulação em vacas

Fonte de variação	Gl	Valor F	P>F
Taxa de crescimento folicular			
Protocolo	1	0,06	0,8014
Ciclicidade	1	0,95	0,3389
Protocolo*ciclicidade	1	1,11	0,3005
Erro	29		
Total	32		
Diâmetro do maior folículo			
Tratamento	1	0,80	0,3770
Ciclicidade	1	0,88	0,3536
Protocolo*ciclicidade	1	0,18	0,6710
Erro	41		
Total	44		
Intervalo da retirada do dispositivo de progesterona à ovulação			
Tratamento	1	0,15	0,6999
Ciclicidade	1	0,49	0,4890
Protocolo*ciclicidade	1	0,01	0,9385
Erro	31		
Total	34		
Intervalo da IATF à ovulação			
Tratamento	1	0,15	0,6999
Ciclicidade	1	0,49	0,4890
Protocolo*ciclicidade	1	0,01	0,9385
Erro	31		
Total	34		

Quadro 3 - Análise de variância para número de folículos em vacas

Fonte de variação	Gl	Valor F	P>F
Ciclicidade	1	2,34	0,1337
Erro (a)	20		
Protocolo	1	0,03	0,8718
Protocolo*ciclicidade	1	4,14	0,0484
Erro (b)	42		
Dia	2	4,56	0,0132
Dia*ciclicidade	2	0,29	0,7513
Dia*protocolo	2	0,10	0,9009
Dia*ciclicidade*tratamento	2	0,16	0,8514
Erro (c)	54		
Total	127		

Quadro 4 - Comparação do número de folículos em função do protocolo sincronização da ovulação e da ciclicidade das vacas

Protocolo	Ciclicidade	Protocolo	Ciclicidade	Valor t	P>t
Controle	Cíclica	Controle	Anestro	2,49	0,0168
Controle	Cíclica	FSH	Cíclica	1,57	0,1241
Controle	Anestro	FSH	Anestro	1,18	0,2432
Controle	Anestro	FSH	Cíclica	-0,98	0,3341
Controle	Anestro	FSH	Anestro	-1,31	0,1976
FSH	Cíclica	FSH	Anestro	-0,36	0,7204

Quadro 5 - Comparação do número de folículos em função do dia de observação em vacas

Dia	Dia	Valor P ajustado-Tukey
0	8	0,0454
0	10	0,0187
8	10	0,9368

Quadro 6 - Análise de variância para diâmetro do maior folículo em vacas

Fonte de variação	Gl	Valor F	P>F
Ciclicidade	1	1,48	0,2304
Erro (a)	20		
Protocolo	1	0,01	0,9862
Protocolo*ciclicidade	1	0,11	0,7467
Erro (b)	42		
Dia	2	30,28	<0,0001
Dia*ciclicidade	2	0,01	0,9942
Dia*protocolo	2	2,36	0,1011
Dia*ciclicidade*tratamento	2	0,25	0,7760
Erro (c)	54		
Total	127		

Quadro 7 - Comparação do diâmetro do maior folículo em função do dia de observação em vacas

Dia	Dia	Valor P ajustado-Tukey
0	8	0,0001
0	10	<0,0001
8	10	0,0004

Quadro 8 - Análise de variância para diâmetro do segundo maior folículo em vacas

Fonte de variação	Gl	Valor F	P>F
Ciclicidade	1	4,21	0,0422
Erro (a)	20		
Protocolo	1	0,01	0,9829
Protocolo*ciclicidade	1	0,02	0,8987
Erro (b)	42		
Dia	2	0,72	0,4873
Dia*ciclicidade	2	0,17	0,8474
Dia*protocolo	2	0,34	0,7113
Dia*ciclicidade*tratamento	2	0,13	0,8801
Erro (c)	54		
Total	127		

Quadro 9 - Análise de regressão logística para taxa de ovulação e de prenhez em vacas

Fonte de variação	Gl	Valor χ^2	P> χ^2
Taxa de ovulação			
Protocolo	1	2,26	0,1331
Ciclicidade	1	6,85	0,0089
Protocolo*ciclicidade	1	1,48	0,2236
Taxa de prenhez			
Protocolo	1	0,00	0,9605
Ciclicidade	1	15,35	<0,0001
Protocolo*ciclicidade	1	2,00	0,1569