

EFEITO DA PROSTAGLANDINA $F_{2\alpha}$ NO INÍCIO DO PROTOCOLO DE SINCRONIZAÇÃO DA OVULAÇÃO EM NOVILHAS LEITEIRAS *Bos indicus*, *Bos taurus* E *Bos indicus* x *Bos taurus*¹

J. B. P. CARVALHO², N. A. T. CARVALHO³, E. L. REIS⁴, M. NICHÍ⁴, J. G. SOARES^{4*}, P. S. BARUSELLI⁴

¹Recebido em 19/10/2016. Aprovado em 27/06/2017.

²Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Polo Regional Vale do Paraíba, Pindamonhangaba, SP, Brasil.

³Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Polo Regional Vale do Ribeira, Registro, SP, Brasil.

⁴Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor correspondente: juliasoares@usp.br

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tratamento com prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) no início do protocolo de sincronização da ovulação, sobre a dinâmica folicular de novilhas *Bos indicus* (Gir; n=11), *Bos taurus* (Holandesa Preto e Branco - HPB; n=10) e cruzadas (Gir x HPB; n=12). Em dia aleatório do ciclo estral (dia 0 - D0), os animais receberam 2,0 mg de benzoato de estradiol (BE) via intramuscular, mais um dispositivo intravaginal de progesterona (P4) que foi mantido por oito dias (dia 8 - D8). Metade das novilhas de cada grupo recebeu uma dose de 25 mg de $PGF_{2\alpha}$ via intramuscular no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P4. Na retirada do dispositivo intravaginal (D8), todos os animais receberam outra dose de 25 mg de $PGF_{2\alpha}$ via intramuscular e 24 h após (dia 9 - D9) receberam 1,0 mg de BE via intramuscular. Foram realizadas avaliações ultrassonográficas com intervalos de 24 horas do D0 até o D8 e com intervalos de 12 horas da retirada do dispositivo de P4 até 96 horas. Para a dosagem de P4, foram colhidas amostras nos dias 0; 3; 6; 8; 10 e 22. A média do diâmetro máximo do folículo dominante (FD) foi menor ($P=0,01$) nas novilhas Gir ($10,0 \pm 0,8$ mm) do que nas cruzadas Gir x HPB ($13,0 \pm 0,6$ mm) ou HPB ($12,5 \pm 0,8$ mm). Além disso, o tratamento com $PGF_{2\alpha}$ no D0 aumentou ($P=0,02$) o diâmetro máximo do FD ($12,9 \pm 0,5$ mm vs. $10,9 \pm 0,7$ mm) nos três grupamentos genéticos avaliados. A taxa de crescimento do FD foi menor ($P=0,008$) nas novilhas Gir ($0,8 \pm 0,1$ mm/dia), do que nas novilhas cruzadas ($1,3 \pm 0,1$ mm/dia) ou HPB ($1,2 \pm 0,1$ mm/dia). As novilhas tratadas com $PGF_{2\alpha}$ no D0 tiveram maiores ($P=0,002$) taxas de crescimento do FD ($1,3 \pm 0,1$ vs. $0,9 \pm 0,1$ mm/dia) nos três grupamentos genéticos avaliados. A taxa de ovulação foi menor ($P=0,02$) nas novilhas Gir (36,4%) do que nas novilhas cruzadas (83,3%), mas não diferiu das novilhas HPB (70,0%). No entanto, as maiores ($P<0,01$) taxas de ovulação (93,7% vs. 35,3%) ocorreram nas novilhas tratadas com $PGF_{2\alpha}$ no D0. A concentração circulante de P4 na retirada do dispositivo intravaginal (D8) foi maior ($P<0,05$) nas novilhas Gir ($3,8 \pm 2,2$ ng/ml), do que nas novilhas cruzadas ($2,2 \pm 1,2$ ng/ml), mas não foi observado contraste significativo nas novilhas HPB ($2,4 \pm 1,6$ ng/ml). Durante todo o período de tratamento, as concentrações circulantes de P4 foram menores ($P<0,05$) nas novilhas tratadas com $PGF_{2\alpha}$ do que aquelas que não receberam tratamento. As novilhas Gir apresentaram menor taxa de crescimento, menor diâmetro máximo do FD e uma tendência de menor taxa de ovulação, do que as novilhas HPB. O tratamento com $PGF_{2\alpha}$ no dia da inserção do dispositivo intravaginal de P4 reduz a concentração circulante de P4, aumenta a taxa de crescimento e o diâmetro máximo do FD e a taxa de ovulação.

Palavras-chave: bovinos, dinâmica folicular, inseminação artificial, progesterona.

EFFECT OF PROSTAGLANDIN F_{2α} AT THE BEGINNING OF THE OVULATION SYNCHRONIZATION
 PROTOCOL IN DAIRY *Bos indicus*, *Bos taurus* AND *Bos indicus* x *Bos taurus* HEIFERS

ABSTRACT: The objective of the present study was to evaluate the effect of treatment with prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) at the beginning of the protocol for ovulation synchronization on follicular dynamics in *Bos indicus* (Gyr; n=11), *Bos taurus* (Holstein Black and White, HBW; n=10), and crossbred animals (Gyr x HBW; n=12). On a random day of the estrous cycles (day 0, D0), the animals received 2.0 mg estradiol benzoate (EB) intramuscularly plus an intravaginal progesterone (P4) device, which was maintained for 8 days (day 8, D8). Half the heifers of each group received a dose of 25 mg PGF_{2α} intramuscularly at the time of insertion of the intravaginal P4 device. When the intravaginal device was removed (D8), all animals received another dose of 25 mg PGF_{2α} intramuscularly, followed by intramuscular injection of 1.0 mg EB 24 h later (day 9, D9). Ultrasonographic evaluations were performed at intervals of 24 hours from D0 to D8 and at intervals of 12 hours from removal of the P4 device to 96 hours thereafter. Samples were collected on days 0, 3, 6, 8, 10 and 22 for the measurement of P4. The mean maximum diameter of the dominant follicle (DF) was smaller (P=0.01) in Gyr heifers (10.0 ± 0.8 mm) than in Gyr x HBW (13.0 ± 0.6 mm) or HBW (12.5 ± 0.8 mm). Furthermore, treatment with PGF_{2α} on D0 increased (P=0.02) the maximum diameter of DF (12.9 ± 0.5 vs. 10.9 ± 0.7 mm) in the three genetic groups evaluated. The growth rate of the DF was lower (P=0.008) in Gyr heifers (0.8 ± 0.1 mm/day) than in crossbred heifers (1.3 ± 0.1 mm/day) or HBW (1.2 ± 0.1 mm/day). Heifers of the three genetic groups treated with PGF_{2α} on D0 had higher (P=0.002) growth rates of DF (1.3 ± 0.1 vs. 0.9 ± 0.1 mm/day). The ovulation rate was lower (P=0.02) in Gyr heifers (36.4%) than in crossbred heifers (83.3%), but did not differ from HBW heifers (70.0%). However, higher (P<0.01) ovulation rates (93.7% vs. 35.3%) were observed in heifers treated with PGF_{2α} on D0. The circulating concentration of P4 on removal of the intravaginal device (D8) was higher (P<0.05) in Gyr heifers (3.8 ± 2.2 ng/ml) than in crossbred heifers (2.2 ± 1.2 ng/ml), but no significant contrast was observed in HBW heifers (2.4 ± 1.6 ng/ml). Throughout the treatment period, the circulating concentrations of P4 were lower (P< 0.05) in heifers treated with PGF_{2α} compared to untreated animals. Gyr heifers exhibited a lower growth rate and smaller maximum diameter of DF and a tendency towards a lower ovulation rate compared to HBW heifers. Treatment with PGF_{2α} on the day of insertion of the intravaginal P4 device reduces circulating P4 concentrations and increases the growth rate and maximum diameter of DF, as well as ovulation rate.

Keywords: cattle, follicular dynamics, artificial insemination, progesterone.

INTRODUÇÃO

A contribuição das raças zebuínas foi de grande importância para a pecuária nacional e hoje, essas raças e os cruzamentos, constituem a maioria do rebanho bovino brasileiro. A raça Gir tem sido utilizada intensivamente em cruzamentos com a raça Holandesa, na formação de animais mestiços leiteiros (Gir x Holandês). A associação entre as características de resistência e adaptação ao ambiente tropical das raças zebuínas (*Bos indicus*) e a alta produção de leite, típica da raça Holandesa (*Bos taurus*), causou um forte impacto nos sistemas de produção (PEREIRA, 2000).

A inseminação artificial (IA) é considerada uma ferramenta importante do manejo reprodutivo, a qual possibilita a introdução e a multiplicação de reprodutores geneticamente superiores, em condições adversas de manejo e ambiente. As vantagens

do uso da IA no melhoramento genético de bovinos, em particular nas raças europeias, já estão amplamente estabelecidas (OVERTON e SISCHO, 2005). Entretanto, a falta de um método eficiente e preciso de detecção de estro, tem limitado drasticamente o desempenho reprodutivo e a difusão dos programas de IA nos rebanhos bovinos. Uma alternativa, é utilizar formas de tratamentos com base na progesterona e estradiol na sincronização do estro e ovulação (KIM *et al.*, 2003), de maneira a provocar a regressão do folículo dominante e induzir a emergência sincrônica de uma nova onda de crescimento folicular (Bó *et al.*, 2003) para o desenvolvimento de métodos práticos de IA controlada, sem a necessidade de detecção de estro (BARUSSELI *et al.*, 2004; SÁ FILHO *et al.*, 2009; SARTORI *et al.*, 2010; SALES *et al.*, 2015).

Os protocolos hormonais usados para a sincronização da emergência da onda de crescimento fo-

licular e ovulação na fêmea zebuína, têm sido adotados de estudos realizados com as raças europeias (MARTINEZ *et al.*, 2000; CAVALIERI *et al.*, 2003). Apesar da semelhança no padrão de crescimento folicular entre os genótipos, importantes diferenças morfológicas e endócrinas foram identificadas (RANDEL, 1984). As diferenças mais distintas estão relacionadas ao menor diâmetro do folículo dominante e do corpo lúteo, observado nas raças zebuínas (FIGUEIREDO *et al.*, 1997; SARTORI *et al.*, 2010) quando comparadas às raças taurinas (CARVALHO *et al.*, 2008; GIMENES *et al.*, 2009; BASTOS *et al.*, 2010), as quais refletem uma redução dos níveis circulantes de progesterona (SEGERSON *et al.*, 1984) e sugerem maior produção de hormônios esteroides em fêmeas taurinas (SARTORI *et al.*, 2010). No entanto, estudos reportam maior concentração circulante de hormônios esteroides em fêmeas zebuínas, quando comparadas às taurinas sob as mesmas condições de manejo (CARVALHO *et al.*, 2008; BASTOS *et al.*, 2010; BATISTA, 2015). Tais características podem alterar vários aspectos da fisiologia reprodutiva, tendo em vista o papel central que os esteroides desempenham no metabolismo e na essencialidade de todos os processos reprodutivos (WILTBANK *et al.*, 2006).

Até o momento, existem poucas informações disponíveis na literatura que tenham comparado simultaneamente em um estudo, as características da onda de crescimento folicular entre raças leiteiras *Bos taurus* e *Bos indicus*. Assim, o entendimento da manipulação hormonal e a regulação do crescimento folicular, bem como da função luteínica, constitui-se em um pré-requisito essencial na obtenção do controle mais preciso do ciclo estral, que permitam o desenvolvimento de protocolos hormonais de sincronização do estro/ovulação, para o emprego da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do tratamento com dispositivo intravaginal de progesterona e benzoato de estradiol, associado com reduzida concentração circulante de progesterona durante o tratamento, por meio da utilização de prostaglandina F_{2α} no início do protocolo de sincronização da ovulação, sobre a dinâmica folicular ovariana de novilhas leiteiras Gir (*Bos indicus*), Holandesa (*Bos taurus*) e cruzadas Gir x Holandesa.

MATERIAL E MÉTODOS

As diretrizes relativas ao bem-estar animal e procedimentos de manejo recomendadas pelo Estado de São Paulo (Brasil) sob a lei número 11.977

foram estritamente seguidas ao longo de todo período experimental.

Foram utilizadas 33 novilhas cíclicas, sendo 11 novilhas da raça Gir, 10 novilhas da raça Holandesa Preto e Branco (HPB) e 12 novilhas cruzadas Gir x HPB, com idade de 24 a 28 meses e peso médio de 375,3 ± 21,4 kg; 439,2 ± 21,7 kg e 415,0 ± 33,1 kg; respectivamente. O experimento foi desenvolvido nas dependências do Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios do Vale do Paraíba, com sede em Pindamonhangaba, SP, durante os meses de outubro e novembro de 2003.

Durante o período experimental, os animais foram mantidos no pasto (*Brachiaria decumbens*) com suplementação de silagem de sorgo e concentrado com 18% de proteína bruta (2,5 kg/dia), e livre acesso à água. A mineralização foi feita com misturas comerciais e fornecida *ad libitum* em cochos localizados no pasto e misturada no volumoso na proporção de 50 g/UA. Antes da realização do experimento, as 33 novilhas foram submetidas à um período de 30 dias de adaptação ao manejo e alimentação.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados em arranjo fatorial 3 x 2, composto por três raças (Gir, HPB e Gir x HPB) e dois tratamentos hormonais (com e sem prostaglandina F_{2α} - PGF_{2α}).

As novilhas foram selecionadas por ultrassonografia, e somente aquelas que apresentaram ciclicidade (presença de corpo lúteo - CL), foram utilizadas. Após a seleção, as novilhas foram divididas em 6 grupos experimentais: Gir com PGF_{2α} no Dia 0 (G-cPGF; n=5); Gir sem PGF_{2α} no Dia 0 (G-sPGF; n=6); Gir x HPB com PGF_{2α} no Dia 0 (GxHPB-cPGF; n=6); Gir x HPB sem PGF_{2α} no Dia 0 (GxHPB-sPGF; n=6); HPB com PGF_{2α} no dia 0 (HPB-cPGF; n=5); HPB sem PGF_{2α} no dia 0 (HPB-sPGF; n=5).

Antes do tratamento intravaginal com progesterona (P4), todas as novilhas receberam duas aplicações sequenciais de PGF_{2α} com intervalo de 12 dias. O tratamento foi iniciado 12 dias após a última aplicação de PGF_{2α} (dia 0 - D0). No D0, cada animal recebeu um dispositivo intravaginal de progesterona (P4; 1,9 g; CIDR-B® InterAg - Hamilton, Nova Zelândia) mais benzoato de estradiol (BE; 2,0 mg via intramuscular.; Index Farmacêutica - São Paulo, SP). Neste mesmo dia, metade das novilhas de cada grupo recebeu uma dose de 25 mg do análogo PGF_{2α} via intramuscular (Dinoprost; Lutalyse®, Rhodia - Mérieux Veterinária Ltda - Paulínia, SP). No dia 8 (D8), o dispositivo intravaginal de P4 foi removido e outra dose de 25 mg do análogo PGF_{2α} foi administrada via intramuscular em todos os ani-

mais. Vinte e quatro horas depois (dia 9 - D9), foi aplicado 1,0 mg via intramuscular de benzoato de estradiol (BE).

Para o estudo da dinâmica folicular, todas as novilhas foram submetidas a exames ultrassonográficos transretais. Foi utilizado aparelho de ultrassom Scanner 100 Vet (Pie Medical Equipment B. V. - Maastricht, Holanda), equipado com transdutor linear de 6,0 e 8,0 MHz de frequência acoplado à impressora (Vídeo Printer, Mitsubishi- Japão).

Os exames foram iniciados no momento da inserção do dispositivo intravaginal (D0) e repetidos em intervalos de 24 horas (h) durante a permanência deste, e em intervalos de 12 h após a remoção, até 96 h após. A imagem adequada do ovário foi congelada no monitor, para medição do tamanho e registro do número de folículos. A ovulação foi definida como o desaparecimento de um folículo de 8,5 mm ou maior, entre duas avaliações ultrassonográficas consecutivas. O momento do início da onda de crescimento folicular foi determinado pelo aparecimento sincrônico de um grupo de folículos antrais maiores que 2,0 mm de diâmetro. A taxa de crescimento (mm/dia) foi calculada pela diferença entre o diâmetro mínimo (>2,0 mm) e o diâmetro máximo (dia 10 - D10), dividida pelo período de crescimento (FIGUEIREDO, *et al.*, 1997).

Para avaliação das concentrações circulantes de progesterona, foram colhidas amostras de sangue da veia coccígea média por venopunção, em tubos a vácuo. As amostras (10 mL) foram centrifugadas por 3 minutos a 2000 x g, para a separação do soro; em seguida, foram acondicionadas em frascos previamente rotulados e conservadas em freezer a -20 °C.

Para a dosagem de progesterona, as amostras foram colhidas no momento da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (D0) e no dia 3 (D3), dia 6 (D6), dia 8 (D8), dia 10 (D10) e dia 22 (D22) do protocolo.

As concentrações séricas de P₄ foram determinadas com o auxílio de kits comerciais de radioimunoensaio em fase sólida (Coat-a-count DPC, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA) em 100 µL de amostra em duplicata, de acordo com as recomendações do fabricante. A sensibilidade do teste foi de 0,07 ng/ml, e os coeficientes de variação intra e inter-ensaio foram inferiores a 10%.

Os dados foram analisados pelo programa SAS (SAS Inst. Inc. Cary, USA) e apresentados como média ± SEM. Foi usado o *Guided Data Analysis* para testar as variáveis quantitativas quanto à normalidade dos resíduos e a homogeneidade das variâncias. Para atingir a normalidade, foi usada a transformação logarítmica (Log₁₀) para algumas

variáveis como momento da ovulação, diâmetro do corpo lúteo (CL), área do CL e progesterona no soro no D22, nas novilhas que tinham ovulado. Outras variáveis como número de folículos recrutados e concentração de progesterona no soro em todas as novilhas no D22, a normalidade foi obtida pela transformação para raiz quadrada. Os dados proporcionais foram analisados com PROC GLM do SAS (SAS Inst. Inc. Cary, USA) e foi usado o Teste de Tukey ou LSD, quando as premissas para o Teste Qui-quadrado não puderam ser atingidas. As análises de progesterona no soro foram efetuadas usando o PROC MIXED do SAS (SAS Inst. Inc. Cary, USA). Diferenças com P ≤ 0,05 foram consideradas estatisticamente significativas, e aquelas com 0,05 < P ≤ 0,10 foram consideradas como tendência.

A análise de variância (ANOVA) foi feita para verificar os efeitos do tratamento (com e sem PGF_{2α} na inserção do dispositivo intravaginal de P₄), grupo genético (Gir, HPB e Gir x HPB) e interações. As variáveis início da onda, número de folículos recrutados, diâmetro do folículo dominante (FD) no D8, diâmetro do FD no D9, diâmetro máximo do FD, diâmetro máximo do folículo ovulatório (FO), taxa de crescimento e progesterona total no D22 obedeceram a normalidade, sendo analisadas pela análise de variância paramétrica. A variável taxa de ovulação foi analisada pelo Qui-quadrado.

RESULTADOS

O diâmetro do FD no dia da inserção do dispositivo intravaginal de P₄ (D0) foi maior (P < 0,001) nas novilhas HPB (13,5 ± 0,7 mm), comparada as novilhas Gir (10,5 ± 0,3 mm) e Gir x HPB (10,3 ± 0,6 mm), Tabela 1. O intervalo entre a inserção do dispositivo intravaginal de P₄ e a emergência da nova onda de crescimento folicular não diferiu entre as raças (P = 0,45). No entanto, o dia da emergência da nova onda de crescimento folicular tendeu a ser menor (P = 0,08) nas novilhas Gir (2,9 ± 0,1 dias; n = 11), comparado com as novilhas HPB (3,3 ± 0,1 dias; n = 10), mas não houve diferença em relação às novilhas Gir x HPB (3,1 ± 0,1 dias; n = 12). O tratamento com PGF_{2α} no D0 não influenciou o dia da emergência da nova onda de crescimento folicular (Tabela 2).

Verificou-se diminuição no número de folículos recrutados (>2 mm) na emergência da nova onda de crescimento folicular no D0 (20,2 ± 2,0 mm vs. 29,2 ± 2,9 mm; P = 0,02) nos animais tratados com PGF_{2α}, comparado aos não tratados (Tabela 2). Embora, não tenha sido observado efeito de raça (P = 0,10), o

Tabela 1. Efeito do tratamento, com ou sem prostaglandina F_{2α} (PGF_{2α}) no dia zero, do grupo genético de novilhas Gir, Holandesa Preto e Branco (HPB) e cruzadas (Gir x HPB), e da interação tratamento x grupo genético sobre as variáveis estudadas

¹ Variáveis	Valor de P		
	Tratamento	Grupo Genético	Interação
Início da onda	0,18	0,08	0,99
Nº folículos recrutados	0,02	0,10	0,90
Diâmetro FD no D8	0,001	0,12	0,42
Diâmetro FD no D9	0,002	0,07	0,42
Diâmetro máximo do FD	0,02	0,01	0,72
Diâmetro máximo do FO	0,89	0,55	0,88
Taxa de crescimento	0,002	0,008	0,63
Taxa de ovulação	0,001	0,02	0,30
Momento da ovulação	0,86	0,39	0,86
Diâmetro CL	0,71	0,002	0,47
Área do CL	0,33	0,003	0,46
P4 total no D22	0,003	0,39	0,94
P4 ovuladas no D22	0,46	0,40	0,70

¹FD: folículo dominante; D8: dia 8; D9: dia 9; FO: folículo ovulatório; CL: corpo lúteo; P4: progesterona; D22: dia 22.

número de folículos recrutados foi numericamente maior nas novilhas Gir x HPB (28,2 ± 3,5 mm) e Gir (26,5 ± 3,1 mm), do que apresentado nas novilhas HPB (18,9 ± 2,9 mm).

O diâmetro do FD da nova onda de crescimento folicular no dia da retirada do dispositivo intravaginal de P4 (Dia 8) não diferiu entre as raças (P=0,12), porém foi maior nos animais tratados com PGF_{2α} (10,1 ± 0,4 mm) em relação aos animais não tratados com PGF_{2α} (7,6 ± 0,5 mm; P=0,001; Tabela 2). No entanto, os resultados mostram que o diâmetro máximo do FD da nova onda de crescimento folicular foi maior nas novilhas Gir x HPB (13,0 ± 0,6 mm) e nas novilhas HPB (12,5 ± 0,8 mm), comparado com as novilhas Gir (10,0 ± 0,8 mm; P=0,01). Também foi observado maior diâmetro máximo do FD nos animais tratados com PGF_{2α} (12,9 ± 0,5 mm) comparado aos não tratados (10,9 ± 0,7 mm; P=0,02; Tabela 2).

Não foi verificado contraste significativo na interação raças (Gir, HPB e Gir x HPB; P=0,55) e tratamento (com e sem PGF_{2α}; P=0,89), para o diâmetro máximo do folículo ovulatório (FO) da nova onda de crescimento folicular (Tabela 2). A taxa de crescimento folicular foi maior (P=0,008) nas novilhas Gir x HPB (1,3 ± 0,1 mm/dia) e HPB (1,2 ± 0,1 mm/dia) comparado às novilhas Gir (0,8 ± 0,1 mm/dia; Tabela 2). O tratamento com PGF_{2α} no D0 também aumentou a taxa de crescimento diária do FD (1,3 ± 0,1 mm vs. 0,9 ± 0,1 mm/dia; P=0,002).

A taxa de ovulação foi maior (P=0,02) nas novilhas Gir x HPB (83,3%; 10/12) do que nas novilhas Gir (36,4%; 4/11), mas não diferiu das novilhas HPB (70,0%; 7/10; Tabela 3). A taxa de ovulação foi maior (P<0,01) em novilhas tratadas com PGF_{2α} no Dia 0 (93,7%; 15/16), comparado com os animais não tratados (35,3%; 6/17; Tabela 3).

Não foram observados efeitos da raça (P=0,39) e do tratamento (P=0,86) no parâmetro referente ao momento da ovulação (Tabela 3), demonstrando que o tratamento com dispositivo intravaginal de P4 foi igualmente eficiente na sincronização da ovulação da nova onda de crescimento folicular.

As novilhas HPB apresentaram maior diâmetro do CL (22,4 ± 0,5 mm), do que as novilhas Gir x HPB (18,6 ± 0,7 mm) e Gir (17,6 ± 0,7 mm; P=0,002). Entretanto, o tratamento com PGF_{2α} no D0 não influenciou no diâmetro do CL (P=0,71; Tabela 3).

As concentrações circulantes de P4 não diferiram entre as novilhas Gir, HPB e Gir x HPB, em relação ao momento da inserção do dispositivo intravaginal (D0; P>0,05), Figura 1. Reciprocamente, as novilhas tratadas com PGF_{2α} e aquelas que não receberam tratamento de PGF_{2α} no D0, também apresentaram similares concentrações circulantes de P4 (P>0,05).

O tratamento com dispositivo intravaginal no D3 elevou as concentrações circulantes de P4 em todos os grupamentos genéticos. Ainda, as concentrações circulantes de P4 foram mais altas (P<0,05) nas novilhas Gir (5,0 ± 2,0 ng/ml), comparadas às

Tabela 2. Dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, número de folículos recrutados, diâmetro (\varnothing) do folículo dominante (FD), \varnothing máximo do FD, \varnothing máximo do folículo ovulatório (FO) e taxa de crescimento em novilhas Gir, Holandesa Preto e Branco (HPB) e cruzadas (Gir x HPB) com ou sem prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) no início do protocolo de sincronização da ovulação

Grupo Genético	Tratamento	n	Início da onda (dia)	Nº de folículos recrutados (> 2 mm)	\varnothing FD no D8 (mm)	\varnothing FD no D9 (mm)	\varnothing máximo do FD (mm)	\varnothing máximo do FO (mm)	Taxa de crescimento (mm/dia)
Gir	Com $PGF_{2\alpha}$	5	3,0 \pm 0 ab	22,0 \pm 2,2 ab	8,9 \pm 0,8 ab	10,0 \pm 1,4 ab	11,5 \pm 1,5 ab	12,1 \pm 1,7	1,0 \pm 0,2 abc
	Sem $PGF_{2\alpha}$	6	2,8 \pm 0,1 b	30,3 \pm 5,1 a	7,2 \pm 0,1 b	7,7 \pm 0,8 b	8,7 \pm 0,7 b	-	0,6 \pm 0,2 c
Gir x HPB	Com $PGF_{2\alpha}$	6	3,1 \pm 0,1 ab	24,5 \pm 3,8 ab	10,7 \pm 0,7 a	12,1 \pm 0,2 a	13,7 \pm 0,3 a	13,7 \pm 0,3	1,4 \pm 0,1a
	Sem $PGF_{2\alpha}$	6	3,0 \pm 0 ab	32,0 \pm 5,8 a	8,8 \pm 1,1 ab	10,4 \pm 1,2 ab	12,4 \pm 1,1 a	13,6 \pm 1,3	1,2 \pm 0,2 ab
HPB	Com $PGF_{2\alpha}$	5	3,4 \pm 0,2 a	13,2 \pm 1,8 b	10,5 \pm 0,8 a	12,2 \pm 0,5 a	13,4 \pm 0,5 a	13,4 \pm 0,5	1,4 \pm 0,1 a
	Sem $PGF_{2\alpha}$	5	3,2 \pm 0,2 ab	24,6 \pm 4,5 ab	6,7 \pm 1,0 b	7,9 \pm 1,4 b	11,6 \pm 1,4 ab	13,7 \pm 2,6	0,9 \pm 0,1 bc
Efeitos Principais									
Gir		11	2,9 \pm 0,1 b	26,5 \pm 3,1	8,0 \pm 0,4	8,7 \pm 0,8 b	10,0 \pm 0,8 b	12,1 \pm 1,7	0,8 \pm 0,1 b
Gir x HPB		12	3,1 \pm 0,1 ab	28,2 \pm 3,5	9,8 \pm 0,7	11,2 \pm 0,6 a	13,0 \pm 0,6 a	13,7 \pm 0,5	1,3 \pm 0,1 a
HPB		10	3,3 \pm 0,1 a	18,9 \pm 2,9	8,6 \pm 0,9	10,0 \pm 1,0 ab	12,5 \pm 0,8 a	13,5 \pm 0,6	1,2 \pm 0,1 a
Com $PGF_{2\alpha}$		16	3,2 \pm 0,1	20,2 \pm 2,0 a	10,1 \pm 0,4 a	11,5 \pm 0,5 a	12,9 \pm 0,5 a	13,1 \pm 0,5	1,3 \pm 0,1 a
Sem $PGF_{2\alpha}$		17	3,0 \pm 0,1	29,2 \pm 2,9 b	7,6 \pm 0,5 b	8,7 \pm 0,7 b	10,9 \pm 0,7 b	13,7 \pm 1,0	0,9 \pm 0,1 b

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si ($P < 0,05$).

Tabela 3. Taxa de ovulação, momento da ovulação, diâmetro (\varnothing) do corpo lúteo (CL), área do CL, progesterona (P4) total no D22 e P4 de novilhas ovuladas no D22 em novilhas Gir, Holandesa Preto e Branco (HPB) e cruzadas (Gir x HPB) com ou sem prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) no início do protocolo de sincronização da ovulação

Grupo Genético	Tratamento	n	Taxa de ovulação (%)	Momento da ovulação (hora)	\varnothing CL (mm)	Área do CL (mm ²)	P4 total D22 (ng/ml)	P4 de novilhas ovuladas D22 (ng/ml)
Gir	Com $PGF_{2\alpha}$	5	80,0 ab (4/5)	76,0 \pm 4,0	17,6 \pm 0,7 b	273,2 \pm 30,7 c	3,5 \pm 0,1 abc	4,2 \pm 1,0
	Sem $PGF_{2\alpha}$	6	0 c (0/6)	-	-	-	1,6 \pm 0,1 c	-
Gir x HPB	Com $PGF_{2\alpha}$	6	100 a (6/6)	76,0 \pm 2,5	18,8 \pm 1,0 b	295,8 \pm 29,0 bc	4,0 \pm 0,5 ab	3,9 \pm 0,5
	Sem $PGF_{2\alpha}$	6	66,7 ab (4/6)	75,0 \pm 3,0	18,4 \pm 1,3 b	303,5 \pm 32,1 bc	2,4 \pm 1,0 bc	3,6 \pm 1,0
HPB	Com $PGF_{2\alpha}$	5	100 a (5/5)	72,0 \pm 0,0	22,1 \pm 0,7 a	390,6 \pm 21,0 ab	5,4 \pm 1,0 a	5,4 \pm 1,0
	Sem $PGF_{2\alpha}$	5	40,0 bc (2/5)	72,0 \pm 0,0	23,2 \pm 0,7 a	446,5 \pm 20,5 a	2,6 \pm 1,0 bc	4,4 \pm 1,9
Efeitos Principais								
Gir		11	36,4 b (4/11)	76,0 \pm 4,0	17,6 \pm 0,7 b	273,2 \pm 30,7 b	2,5 \pm 1,0	4,2 \pm 1,0
Gir x HPB		12	83,3 a (10/12)	75,6 \pm 1,8	18,6 \pm 0,7 b	298,9 \pm 20,5 b	3,2 \pm 1,0	3,8 \pm 0,4
HPB		10	70,0 ab (7/10)	72,0 \pm 0,0	22,4 \pm 0,5 a	406,6 \pm 18,4 a	4,0 \pm 1,0	5,1 \pm 1,0
Com $PGF_{2\alpha}$		16	93,7 a (15/16)*	74,6 \pm 1,4	19,6 \pm 0,7	321,4 \pm 19,8	4,3 \pm 0,4 a*	4,5 \pm 0,4
Sem $PGF_{2\alpha}$		17	35,3 b (6/17)	74,0 \pm 2,0	20,0 \pm 1,3	351,2 \pm 36,7	2,2 \pm 0,5 b	3,9 \pm 1,0

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si ($P < 0,05$). *Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem entre si ($P < 0,10$).

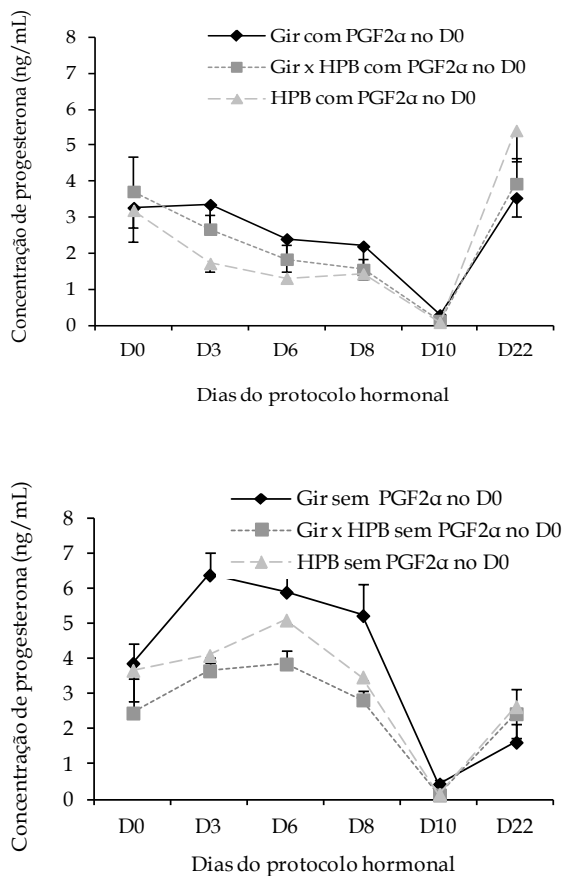


Figura 1. Concentração circulante de progesterona (P4) de acordo com o tratamento, com prostaglandina F_{2α} - PGF_{2α} (A) e sem PGF_{2α} (B), e grupos genéticos Gir, Holandesa Preto e Branco (HPB) e cruzados (Gir x HPB) no dia 0 (D0); dia 3 (D3); dia 6 (D6); dia 8 (D8); dia 10 (D10) e dia 22 (D22) do protocolo.

novilhas Gir x HPB ($3,1 \pm 0,8$ ng/ml) e HPB ($3,0 \pm 1,5$ ng/ml). No entanto, as novilhas tratadas com PGF_{2α} ($2,6 \pm 1,0$ ng/ml) tiveram concentrações circulantes de P4 mais baixas ($P < 0,05$), comparado com as novilhas que não receberam tratamento com PGF_{2α} ($4,7 \pm 1,6$ ng/ml).

Não foram observadas diferenças nas concentrações circulantes de P4 entre os grupos genéticos no D6. Em contraste, as concentrações circulantes de P4 foram mais baixas ($P < 0,05$) nas novilhas tratadas com PGF_{2α} ($1,8 \pm 0,9$ ng/ml), do que nas novilhas não tratadas ($4,9 \pm 1,9$ ng/ml). No entanto, foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) nas concentrações circulantes de P4 durante a retirada do dispositivo intravaginal no D8, entre os grupos de novilhas Gir ($3,8 \pm 2,2$ ng/ml) e Gir x HPB ($2,2 \pm 1,2$ ng/ml), mas nenhuma diferença destes grupamentos gené-

ticos, em relação ao grupo de novilhas HPB ($2,4 \pm 1,6$ ng/ml). Similarmente ao D6, as concentrações circulantes de P4 no D8, foram mais baixas ($P < 0,05$) nas novilhas tratadas com PGF_{2α}, comparado às novilhas que não receberam tratamento adicional ($1,7 \pm 0,6$ ng/ml vs. $3,8 \pm 2,0$ ng/ml), respectivamente.

No D10, as concentrações circulantes de P4 retornaram aos valores basais em todas as novilhas. Interessantemente, foi observado que as novilhas Gir ($0,3 \pm 0,08$ ng/ml) tiveram concentrações circulantes de P4 mais altas ($P < 0,05$) comparadas às novilhas Gir x HPB ($0,1 \pm 0,01$ ng/ml) e HPB ($0,1 \pm 0,01$ ng/ml). O tratamento com PGF_{2α} no início do experimento, não influenciou as concentrações séricas de P4 após a retirada do dispositivo intravaginal.

DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que a associação do dispositivo intravaginal de P4 e o BE, com ou sem a utilização de PGF_{2α} no início do protocolo de sincronização da ovulação, previnem a ovulação do FD presente no início do tratamento e sincronizam a emergência de uma nova onda de crescimento folicular em novilhas leiteiras das raças Gir, HPB e Gir x HPB. Estes resultados estão em concordância com os relatos de investigações prévias, em que foram utilizados estradiol e progesterona para sincronizar o desenvolvimento folicular em fêmeas bovinas (Bó *et al.*, 1995; BURKE *et al.*, 2001; CAVALIERI *et al.*, 1997; BARUSSELI *et al.*, 2004).

A emergência da nova onda de crescimento folicular nas novilhas HPB e Gir x HPB ($3,2 \pm 0,1$ dias) foram similares aos resultados obtidos por BURKE *et al.* (2001) e mais precoces que nos estudos de Bó *et al.* (1995; $4,3 \pm 0,2$ dias) e de MORENO *et al.* (2001; $4,0 \pm 0,2$ dias), os quais utilizaram 5,0 mg de E-17β via intramuscular e 2,0 mg de BE + 50 mg de P4 via intramuscular, respectivamente, no início do tratamento intravaginal de P4. As variações observadas no dia da emergência da onda de crescimento folicular estão associadas à dose e à forma de preparação do E₂ utilizadas que, por sua vez, produzem diferentes efeitos sobre as concentrações de gonadotrofinas (MAPLETOFT *et al.*, 2003). Entretanto, nas novilhas Gir, a emergência da nova onda de crescimento folicular diferiu ($2,9 \pm 0,1$ dias) dos demais grupamentos genéticos e daqueles encontrados na literatura corrente. VIANA *et al.* (2000) estudaram a dinâmica folicular em bovinos da raça Gir e demonstraram uma significativa correlação positiva, entre o menor diâmetro do FD e a emergência pre-

coce de uma nova onda de crescimento folicular. Estas observações estão coincidentes com o menor diâmetro apresentado pelas novilhas Gir ($10,5 \pm 0,3$ mm) no D0 do protocolo. Desta forma, as variações observadas no dia da emergência da nova onda de crescimento folicular, podem estar associadas com a secreção e liberação do FSH-dose dependente de estradiol (MAPLETOFT *et al.*, 2003) ou com as diferenças endócrinas entre os grupos genéticos (BURKE *et al.*, 2001).

A resposta folicular foi semelhante entre os grupos genéticos. Embora, não tenha sido observado contraste significativo, a atividade folicular nas novilhas Gir ($26,5 \pm 3,1$) e Gir x HPB ($28,2 \pm 3,5$) foi maior do que nas novilhas HPB ($18,9 \pm 2,9$); conforme verificado pelo maior número de folículos recrutados no início da onda de crescimento folicular. Estes resultados sustentam os relatos de SEGERSON *et al.* (1984) e de ALVAREZ *et al.* (2000), os quais observaram maior número de pequenos folículos em novilhas *Bos indicus*, em relação aos descritos em novilhas *Bos taurus* (GINTHER *et al.*, 2001). Outros estudos relataram que a população de folículos antrais em novilhas *Bos indicus* é em média maior que em novilhas *Bos taurus* (BURATINI *et al.*, 2000; CARVALHO *et al.*, 2008; GIMENES *et al.*, 2009). Esta característica pode estar associada às maiores concentrações de insulina e IGF-1 observadas em fêmeas zebuínas, quando comparadas às taurinas (BASTOS, 2012).

O crescimento do FD é considerado criticamente dependente de um arranjo no ambiente hormonal do LH (CROWE, 1999). O tratamento com progesterona em combinação com o estradiol durante a fase de crescimento folicular reduz ou bloqueia a frequência dos pulsos de LH; entretanto, elevações sustentadas nas concentrações de LH circulante, são essenciais para a diferenciação esteroidogênica do FD e induzir a ovulação (GINTHER *et al.*, 2001). No presente estudo, o menor diâmetro do FD nas novilhas Gir, comparado com o das novilhas HPB e cruzadas Gir x HPB, está diretamente relacionado com as baixas taxas de crescimento e ovulação. Tais achados estão consistentes com os relatos de diferentes grupos (FIGUEIREDO *et al.*, 1997; GAMBINI *et al.*, 1998; ALVAREZ *et al.*, 2000), os quais observaram menor diâmetro do FD nas raças zebuínas, do que aqueles encontrados nas raças europeias. Observação similar também foi encontrada por Cavaliere *et al.* (2002) em novilhas Brahman e Cruzadas, quando submetidas a protocolos de sincronização da ovulação, em que a presença de folículos de menor diâmetro ($9,1 \pm 0,6$ mm vs. $10,7 \pm 0,4$ mm; $P = 0,03$), estava correlacionada com falhas de ovulação. Parece provável que o menor diâmetro do FD nas novilhas

Gir, esteja relacionado com o aumento nas concentrações de progesterona no soro, que associados às deficiências de liberação do LH em raças zebuínas, interferem nas mudanças das células foliculares e indução da onda pré-ovulatória de LH.

O efeito mais evidente da concentração de progesterona endógena no soro sobre a dinâmica folicular no presente estudo foi examinado ao comparar um grupo de novilhas com CL funcional (controle) e um grupo de novilhas sem o CL (luteólise induzida). A manipulação do perfil de progesterona no soro pelos tratamentos com e sem PGF_{2α}, seguido da inserção do dispositivo de P4, teve como resultados diferentes ambientes de progesterona e significativa alteração nos padrões de crescimento do FD, entre os tratamentos. No grupo de novilhas tratadas com PGF_{2α} foi observado aumento no diâmetro do FD no momento da retirada do CIDR® e aumento máximo do FD, comparado com as novilhas que não receberam PGF_{2α}. De fato, as diferenças detectadas no diâmetro do FD entre os tratamentos com e sem PGF_{2α} podem ser atribuídas ao aumento na taxa de crescimento do FD ($1,3 \pm 0,9$ mm/dia). Resultados similares, foram obtidos nos estudos de UTT *et al.* (2003) sobre a dinâmica folicular e sincronização da ovulação em vacas de corte, os quais avaliaram os efeitos dos tratamentos com PGF_{2α} ou salina no momento da inserção do dispositivo de P4 e encontraram aumento no diâmetro e na taxa de crescimento do FD (1,5 vs. 1,2 mm/dia).

Vários relatos têm indicado que o FD atinge o maior diâmetro quando se desenvolve em presença de concentrações subluteínicas de progesterona no plasma (SIROIS e FORTUNE, 1990; SAVIO *et al.*, 1993), associado ao aumento na frequência dos pulsos de LH (IRELAND e ROCHE, 1982; ROBERSON *et al.*, 1989; SARTORI *et al.*, 2001). O tamanho médio do FD na divergência folicular parece ser maior em fêmeas *Bos taurus* (8,5 mm; GINTHER *et al.*, 1996) do que em *Bos indicus* (5,4 a 6,2 mm; SARTORELLI *et al.*, 2005; GIMENES *et al.*, 2008). Elevadas concentrações de P4 podem suprimir a frequência de pulsos de LH (BERGFELD *et al.*, 1996; HATLER *et al.*, 2008) e, conseqüentemente, suprimir o crescimento folicular (STOCK; FORTUNE, 1993; CIPRIANO *et al.*, 2011; SALES *et al.*, 2015), resultando em folículos de menor diâmetro em fêmeas *Bos indicus* (BATISTA, 2015). No presente estudo, as concentrações circulantes de progesterona nas novilhas tratadas com PGF_{2α} à inserção do dispositivo de P4, foram mais baixas entre o D3 e o D8, do que as novilhas que não receberam PGF_{2α}. Embora, o presente estudo não tenha sido delineado para quantificar a frequência dos pulsos de LH, sugere-se que o aumento na taxa de crescimento e no diâmetro do FD

das novilhas que receberam tratamento de PGF_{2α} tenham sido mediado pelas baixas concentrações circulantes de progesterona e consequente aumento na frequência dos pulsos de LH. Em relatos prévios, GINTHER *et al.* (1989) já haviam demonstrado que durante o período luteínico inicial do ciclo estral ocorrem as mais altas taxas de crescimento do FD, em consequência das baixas concentrações de progesterona e aumento nos pulsos de LH.

A taxa de ovulação foi mais baixa nas novilhas Gir (36,4%) comparada com as novilhas HPB (70,0%). É provável que o diâmetro do FD (8,0 mm), no momento da retirada do dispositivo de P4, não tenha adquirido a capacidade ovulatória. Consistente com essa ideia, apenas 35,3% das novilhas com o CL funcional desde o início do tratamento, ovularam. Em contraste, as novilhas submetidas à luteólise inicial, apresentaram diâmetro do FD de 10,0 mm de diâmetro e quase todas ovularam (93,7%). Estudo em vacas Holandesas, SARTORI *et al.* (2001) relataram taxa de ovulação entre 70-80%, no momento em que os folículos atingem o diâmetro ≥10 mm, em resposta à administração de LH. GIMENES *et al.* (2008) obtiveram em raças de corte, taxa de ovulação de 33,3% e diâmetro folicular variando de 7,0 - 8,0 mm em resposta ao desafio de LH. Em conjunto, os resultados destes estudos sugerem que o crescimento máximo do FD, requer concentrações adequadas de LH, no momento em que o folículo adquire a capacidade ovulatória.

Os efeitos dos esteróides ovarianos (estradiol e progesterona) têm grande influência na síntese e secreção de gonadotrofinas (FSH e LH) e ambos são mediados via hipotálamo e pituitária (NETT *et al.*, 2002). Por isso, a baixa resposta ovulatória observada nas novilhas Gir, pode ser explicada pelos efeitos inibidores da alta concentração de P4 circulante sobre a síntese e secreção de LH, componente chave para desencadear a cadeia de eventos do processo de ovulação. Evidencia-se que o aumento na sensibilidade da pituitária durante o período periovulatório, pode ocorrer como resultado do decréscimo nas concentrações de P4 endógena (NETT *et al.*, 2002) e aumento na frequência dos pulsos de GnRH e LH (ADAMSET *et al.*, 1992). Isto está em concordância com as baixas concentrações circulantes de progesterona e na liberação do LH nas novilhas Holandesas, que provavelmente estão relacionadas com o aumento no metabolismo de esteróides. Evidência corrente sugere que o decréscimo da P4 circulante em vacas leiteiras, pode ser causado pelo aumento do metabolismo esteróide, associado com a alta produção e consumo de alimento (SANGSRITA-VONG *et al.*, 2002).

Considerando que durante o período experi-

mental, todas as novilhas do presente estudo receberam a mesma dieta, as concentrações mais altas de P4 durante o tratamento nas novilhas Gir, podem ser explicadas pela possível ingestão mais baixa de alimento nesta espécie. Neste sentido, as concentrações mais baixas de progesterona após o tratamento com dispositivo de P4 nas novilhas HPB e cruzadas Gir x HPB, também poderia ser decorrente da alta ingestão de alimento nestes animais, selecionados geneticamente para alta produção de leite. Estudo recente relatou que as baixas concentrações circulantes de P4 provenientes de dispositivos intravaginais reutilizados, podem ser suficientes para promover satisfatório controle do crescimento folicular ovariano e da ovulação, e da taxa de prenhez em fêmeas *Bos indicus* (SALES *et al.*, 2015). Tem sido demonstrada a possibilidade de utilizar protocolos com dispositivos intravaginais de P4 reutilizados ao menos duas vezes, sem apresentar efeitos negativos nas taxas de prenhez em novilhas *Bos indicus* (DIAS *et al.*, 2009; PERES *et al.*, 2009; MENEGHETTI *et al.*, 2009; CLARO-JUNIOR *et al.*, 2010).

Existe também relato de que a manipulação da dinâmica do folículo pré-ovulatório influencia a subsequente função luteínica (ROBINSON *et al.*, 2005; PFEIFER *et al.*, 2009; DADARWAL *et al.*, 2013). No presente estudo, apesar do diâmetro do CL ter sido maior nas novilhas Holandesas, comparado aos observados nas novilhas Gir e Gir x HPB, não houve diferença significativa nas concentrações circulantes de P4 no D22. Estes resultados são sustentados pelos estudos prévios de LOPEZ *et al.* (2005) em vacas e novilhas leiteiras, que relataram baixa correlação entre as estruturas ovarianas e os hormônios esteróides circulantes. Embora o diâmetro do CL tenha sido similar entre as novilhas tratadas ou não com PGF_{2α}, as concentrações de P4 foram mais altas nos animais tratados com PGF_{2α} comparadas ao grupo controle neste estudo. Isto está em concordância com os estudos de SARTORI *et al.* (2004), os quais mostraram aumento na capacidade esteroidogênica do corpo lúteo (CL), na ausência de aumento no volume luteínico. Assim, as diferenças encontradas no diâmetro das estruturas ovarianas e as concentrações circulantes de P4, podem ser explicadas pelas mudanças no metabolismo dos hormônios esteróides entre os genótipos estudados. Estudos sugerem que o metabolismo hepático de esteróides é mais lento em fêmeas *Bos indicus* (BASTOS, 2012; BATISTA, 2015), comparado às fêmeas Holandesas, que com o aumento da ingestão de matéria seca, aumentam do fluxo sanguíneo hepático e o metabolismo de esteróides no fígado (SANGSRITAVONG *et al.*, 2002).

Em conclusão, o envolvimento crítico das altas

concentrações circulantes de progesterona no crescimento folicular nas novilhas Gir durante o tratamento com dispositivos novos de 1,9 g de P4 associado ao BE, pode ter causado uma diminuição nas taxas de crescimento do FD e ovulação, sendo portanto, uma forte evidência do reduzido potencial de uso deste protocolo como estratégia para IATF neste grupo genético. Em contraste, as mais baixas concentrações de progesterona circulante observadas nas novilhas HPB e cruzadas Gir x HPB, contribuíram para o aumento nas taxas de crescimento do FD e ovulação, e sugerem que o tratamento com dispositivo intravaginal de P4 associado ao BE, parece ser mais indicado em novilhas européias e cruzadas. Os resultados também mostram que o tratamento com PGF_{2α} no dia da inserção do dispositivo de P4, reduz as concentrações circulantes de progesterona, aumenta as taxas de crescimento do FD e ovulação, e pode ser uma abordagem alternativa para melhorar a eficiência dos protocolos de IATF em novilhas leiteiras.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fazenda Ponte Nova e ao Polo Regional Vale do Paraíba por fornecer as facilidades e manejo dos animais, à FAPESP e ao CNPq pelo apoio ao nosso trabalho.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; GINTHER, O.J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.95, p.627-640, 1992.
- ALVAREZ, P.; SPICER, L.J.; CHASE, C.C.; PAYTON, M.E.; HAMILTON, T.D.; STEWART, R.E.; HAMMOND, A.C.; OLSON, T.A.; WETTEMANN, R.P. Ovarian and endocrine characteristics during and estrous cycle in Angus, Brahman, and Senepol cows in a subtropical environment. **Journal of Animal Science**, v.78, p.1291-1302, 2000. <https://doi.org/10.2527/2000.7851291x>
- BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v.82-83, p.479-486, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.04.025>
- BASTOS, M.R.; MATTOS, M.C.C.; MESCHIATTI, M.A.P.; SURJUS, R.S.; GUARDIEIRO, M.M.; FERREIRA, J.C.P.; MOURÃO, G.B.; PIRES, A.V.; BIEHL, M.V.; PEDROSO, A.M.; SANTOS, F.A.P.; SARTORI, R. Ovarian Function and circulating hormones in non-lactating Nelore versus Holstein cows. **Acta Scientia Veterinariae**, v.38, p.776, 2010. Suplemento, 2.
- BASTOS, M.R. **Diferenças fisiológicas e reprodutivas entre *Bos taurus* e *Bos indicus***. 2012. 145f. Tese (Doutorado em Reprodução Animal) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.
- BATISTA, E.O.S. **Resposta ovariana, endócrina e molecular de novilhas taurinas e zebuínas submetidas a diferentes níveis nutricionais de ingestão de matéria seca**. 2015. 118f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, São Paulo, 2015. <https://doi.org/10.11606/t.10.2015.tde-15122015-093720>
- BERGFELD, E.G.; KOJIMA, F.N.; CUPP, A.S.; WEHRMAN, M.E.; PETERS, K.E.; MARISCAL, V.; SANCHEZ, T.; KINDER, J.E. Changing dose of progesterone results in sudden changes in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17 beta-estradiol in bovine females. **Biology of Reproduction**, v.54, p.546-53, 1996. <https://doi.org/10.1095/biolreprod54.3.546>
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTÍNEZ, M.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progesterone and oestradiol in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.39, p.193-204, 1995. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(95\)01389-h](https://doi.org/10.1016/0378-4320(95)01389-h)
- 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. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(03\)00097-6](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(03)00097-6)
- BURATINI, J.; PRICE, C.A.; VISINTIN, J.A.; BÓ, G.A. Effects of dominant follicle aspiration and treatment with recombinant bovine somatotropin (BST) on ovarian follicular development in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Theriogenology**, v.54, p.421-431, 2000. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(00\)00359-9](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(00)00359-9)
- BURKE, C.R.; MUSSARD, M.L.; GRUM, D.E.; DAY, M.L. 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. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(01\)00101-4](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(01)00101-4)
- CARVALHO, J.B.P.; CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus*×*Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.167-175, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.08.035>
- CAVALIERI, J.; RUBIO, I.; KINDER, J.E.; ENTWISTLE,

- K.W.; FITZPATRICK, L.A. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.47, p.801-814, 1997. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(97\)00036-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00036-8)
- CAVALIERI, J.; COLEMAN, C.; RODRUGUES, H.; MACMILLAN, K.L.; FITZPATRICK, L.A. The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronized with a progesterone releasing intravaginal insert. **Australian Veterinary Journal**, v.80, p.217-223, 2002. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2002.tb10817.x>
- CAVALIERI, J.; HEPWORTH, G.; PARKER, K.I.; WRIGHT, P.J.; MACMILLAN, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone releasing insert on ovarian follicular development and concentrations in holstein cows. **Animal Reproduction Science**, v.76, p.177-193, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(02\)00260-9](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(02)00260-9)
- CLARO-JÚNIOR, I.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G.; AONO, F.H.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Reproductive performance of prepubertal *Bos indicus* heifers after progesterone-based treatments. **Theriogenology**, v.74, p.903-111, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.015>
- CIPRIANO, R.S.; CARVALHO, B.A.; MARANGONI, N.R.; NOGUEIRA, G.P. LH and FSH concentration and follicular development in Nelore heifers submitted to fixed-time artificial insemination protocols with different progesterone concentrations. **Animal Reproduction Science**, v.127, p.16-22, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.06.002>
- CROWE, M.A. Gonadotrophic control of terminal follicular growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v.34, p.157-166, 1999. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.1999.tb01234.x>
- DADARWAL, D.; MAPLETOFT, R.J.; ADAMS, G.P.; PFEIFER, L.F.M.; CREELMAN, C.; SINGH, J. Effect of progesterone concentration and duration of proestrus on fertility in beef cattle after fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.79, p.859-866, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.01.003>
- DIAS, C.C.; WECHSLER, F.S.; DAY, M.L.; VASCONCELOS, J.L.M. Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F_{2α} treatment affect fertility in postpubertal Nelore heifers. **Theriogenology**, v.72, p.378-385, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.03.006>
- FIGUEIREDO, R.A.; BARROS, C.M.; PINHEIRO, O.L.; SOLER, J.M.P. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v.47, p.1489-1505, 1997. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(97\)00156-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00156-8)
- GAMBINI, A.L.G.; MOREIRA, M.B.P.; CASTILHO, C.; BARROS, C.M. Desenvolvimento folicular e sincronização da ovulação em vacas da raça Gir. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.22, p.201-210, 1998.
- GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. Follicle deviation na ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.852-858, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.01.001>
- GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. Follicular dynamics of *Bos indicus*, *Bos taurus* and *Bubalus bubalis* heifers treated with norgestomet ear implant associated or not to injectable progesterone. **Animal Reproduction**, v.6, p.256, 2009.
- GINTHER, O.J.; KNOFF, L.; KASTELIC, J.P. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.87, p.223-230, 1989. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0870223>
- GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biology of Reproduction**, v.55, p.1187-94, 1996.
- GINTHER, O.J.; BERGFELT, D.R.; BEG, M.A.; KOT, K. Effect of LH on circulating oestradiol and follicular fluid factor concentrations during deviation in cattle. **Reproduction**, v.122, p.103-110, 2001. <https://doi.org/10.1530/rep.0.1220103>
- HATLER, T.B.; HAYES, S.H.; RAY, D.L.; REAMES, P.S.; SILVIA, W.J. Effect of subluteal concentrations of progesterone on luteinizing hormone and ovulation in lactating dairy cows. **The Veterinary Journal**, v.177, p.360-368, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.06.003>
- IRELAND, J.J.; ROCHE, J.F. Effects of progesterone on basal LH and FSH secretion in heifers. **Reproduction**, v.64, p.295-302, 1982. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0640295>
- KIM, U.H.; SUH, G.H.; SON, D.S. A progesterone-based timed AI protocol more effectively prevents premature estrus and incomplete luteal regression than an Ovsynch protocol in lactating Holstein cows.

- Theriogenology**, v.60, p.809-817, 2003. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00136-5](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00136-5)
- LOPEZ, H.; CARAVIELLO, D.Z.; SATTER, L.D.; FRICKE, P.M.; WILTBANK, M.C. Relationship between level of Milk production and multiple ovulations in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2783-2793, 2005. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(05\)72958-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(05)72958-1)
- MAPLETOFT, R.J., COLAZO, M.G.; MARTÍNEZ, M.F.; KASTELIC, J.P. Ésteres de estrógeno para la sincronización de la emergencia de la onda folicular y la ovulación en animales tratados con dispositivos con progesterona. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCIÓN ANIMAL, 5., 2003, Córdoba, Argentina. **Proceedings...** Córdoba, Argentina: SIRA, 2003. p.55-67.
- MARTÍNEZ, M.F.; ADAMS, G.P.; BERGFELT, D.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Induction of follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination heifers. **Theriogenology**, v.54, p.757-769, 2000. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(00\)00388-5](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(00)00388-5)
- MENEGHETTI, M.; SÁ FILHO, O.G.; PERES, R.F.G.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. **Theriogenology**, v.72, p.179-189, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.02.010>
- MORENO, D.; CUTAIA, L.; VILLATA, L.; ORTISI, F.; BÓ, G. Follicle wave emergence in beef cows treated with progesterone releasing devices, estradiol and progesterone. **Theriogenology**, v.55, p.408, 2001. Abstract.
- NETT, T.M.; TURZILLO, A.M.; BARATTA, M.; RISPOLI, L.A. Pituitary effects of steroid hormones on secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.33-42, 2002. [https://doi.org/10.1016/s0739-7240\(02\)00143-1](https://doi.org/10.1016/s0739-7240(02)00143-1)
- OVERTON, M.W.; SISCHO, W.M. Comparison of reproductive performance by artificial insemination versus natural service sires in California dairies. **Theriogenology**, v.64, p.603-613, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.030>
- PEREIRA, J.C.C. Contribuição genética do zebu na pecuária bovina do Brasil. **Informe Agropecuário**, v.21, p.30-38, 2000.
- PERES, R.F.G.; CLARO JÚNIOR, I.C.; SÁ FILHO, O.G.; NOGUEIRA, G.P.; VASCONCELOS, J.L.M. Strategies to improve fertility in *Bos indicus* postpubertal heifers and nonlactating cows submitted to fixed-time artificial insemination. **Theriogenology**, v.72, p.681-689, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.04.026>
- PFEIFER, L.F.M.; MAPLETOFT, R.J.; KASTELIC, J.P.; SMALL, J.A.; ADAMS, G.P.; DIONELLO, N.J.; SINGH, J. Effects of low versus physiologic plasma progesterone concentrations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. **Theriogenology**, v.72, p.1237-1250, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.07.019>
- RANDEL, R.D. Seasonal effects on female reproductive function in the bovine (Indian breeds). **Theriogenology**, v.21, p.170-185, 1984. [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(84\)90315-7](https://doi.org/10.1016/0093-691x(84)90315-7)
- ROBERSON, M.S.; WOLFE, M.W.; STUMPF, T.T.; KITOK, R.J.; KINDER, J.E. Luteinizing hormones secretion and corpus luteum function in cows receiving two levels of progesterone. **Biology of Reproduction**, v.41, p.997-1003, 1989. <https://doi.org/10.1095/biolreprod41.6.997>
- ROBINSON, R.S.; HAMMOND, A.J.; HUNTER, M.G.; MANN, G.E. The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rise in dairy cows: a novel model. **Domestic Animal Endocrinology**, v.28, p.285-295, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2004.10.003>
- SÁ FILHO, O.G.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-8, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.02.008>
- SALES, J.N.S.; CARVALHO, J.B.P.; CREPALDI, G.A.; SOARES, J.G.; GIROTTI, R.W.; MAIO, J.R.G.; SOUZA, J.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of circulating progesterone concentration during synchronization for fixed-time artificial insemination on ovulation and fertility in *Bos indicus* (Nelore) beef cows. **Theriogenology**, v.83, p.1093-1100, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.12.009>
- SANGSRITAVONG, S.; COMBS, D.K.; SARTORI, R.; ARMENTANO, L.E.; WILTBANK, M.C. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17 β in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2831-2842, 2002. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(02\)74370-1](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(02)74370-1)
- SARTORELLI, E.S.; CARVALHO, L.M.; BERGFELT, D.R.; GINTHER, O.J.; BARROS, C.M. Morphological characterization of follicle deviation in Nelore (*Bos indicus*) heifers and cows. **Theriogenology**, v.63, p.2382-2394, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.08.017>
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.R.; GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biology of Reproduction**, v.65, p.1403-1409, 2001. <https://doi.org/10.1095/biolreprod65.5.1403>

- SARTORI, R.; HAUGHIAN, J.M.; SHAVER, R.D.; ROSA, G.J.M.; WILTBANK, M.C. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of holstein heifers and lactating cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.905-920, 2004. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(04\)73235-x](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(04)73235-x)
- SARTORI, R.; BASTOS, M.R.; BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; ERENO, R.L.; BARROS, C.M. Physiological differences and implications to reproductive management of *Bos taurus* and *Bos indicus* cattle in a tropical environment. **Reproduction in Domestic Ruminants**, v.67, p.357-375, 2010. <https://doi.org/10.5661/rdr-vii-357>
- SAVIO, J.D.; THATCHER, W.W.; MORRIS, G.R.; ENTWISTLE, K.; DROST, M.; MATTIACCI, M.R. Effects of induction of low plasma progesterone concentrations with a progesterone-releasing device on follicular turnover and fertility in cattle. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.98, p.77-84, 1993. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0980077>
- SEGERSON, E.C.; HANSEN, T.R.; LIBBY, D.W.; RANDEL, R.D.; GETZ, W.R. Ovarian and uterine morphology and function in Angus and Brahman cows. **Journal of Animal Science**, v.59, p.1026-1046, 1984. <https://doi.org/10.2527/jas1984.5941026x>
- SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance. **Endocrinology**, v.127, p.916-925, 1990. <https://doi.org/10.1210/endo-127-2-916>
- STOCK, A.E.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v.132, p.1108-1114, 1993. <https://doi.org/10.1210/endo.132.3.8440173>
- UTT, M.D.; JOUSAN, F.D.; BEAL, W.E. The effects of varying the interval from follicular wave emergence to progestin withdrawal on follicular dynamics and the synchrony of estrus in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.81, p.1562-1567, 2003. <https://doi.org/10.2527/2003.8161562x>
- VIANA, J.H.M.; FERREIRA, A.M.; SÁ, W.F.; CAMARGO, L.S.A. Follicular dynamics in zebu cattle. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, p.2501-2509, 2000. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2000001200021>
- WILTBANK, M.C.; LOPEZ, H.; SARTORI, R.; SANGSRITAVONG, S.; GÜMEN, A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, p.17-29, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.10.003>