

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

TIAGO BOTELHO GOMES

**EFEITO DA PRÉ-EXPOSIÇÃO DE PROGESTERONA NA TAXA DE CONCEPÇÃO
EM VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF**

Campos dos Goytacazes

2013

TIAGO BOTELHO GOMES

**EFEITO DA PRÉ-EXPOSIÇÃO DE PROGESTERONA NA TAXA DE CONCEPÇÃO
EM VACAS DE CORTE SUBMETIDAS À IATF**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito para obtenção do grau de Mestre em ciência animal na área de concentração de Melhoramento Animal e Biotecnologia da Reprodução.

ORIENTADOR: Reginaldo da Silva Fontes

Campos dos Goytacazes

2013

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, força de tudo, e aos meus pais, Adelbio e Eliane, por sempre me apoiarem em tudo e terem dedicado suas vidas a cuidar dos filhos, além de fazer o possível para não faltar nada aos mesmos.

Agradeço ao meu irmão Leonardo e à minha cunhada Thaís, por todos os momentos de conselhos, ajudas e amizade que necessitei ao longo desta caminhada.

Aos meus tios, Sônia e Sérgio, e ao meu primo Márcio, sempre me indicando o melhor caminho a ser seguido na vida e, sempre que possível, me ajudando.

Aos meus amigos Mateus, Andressa, Flaviano e Alberto, Ítalo (canário), que muito me ajudaram além do que poderiam e por me proporcionarem momentos de alegria durante toda a pós-graduação.

Ao meu amigo João Gomes, que, sempre que possível, me orienta na minha vida pessoal e profissional. Uma pessoa sobre a qual tenho respeito, admiro e considero muito importante durante estes 7 anos de residência em Campos dos Goytacazes.

Aos meus amigos de república, Anderson, Edison, Diogo, Luís Felipe e Alex, que estiveram juntos comigo durante esta longa batalha da vida e compartilhando momentos que jamais serão esquecidos. Amizade esta já de longa data.

Ao professor Reginaldo Fontes, por me ter possibilitado conhecer a área de reprodução animal desde o início da universidade, podendo eu, assim, aprofundar meus conhecimentos nesta área. Também pelo apoio e orientação durante o meu período de mestrado.

À empresa Ouro Fino Agronegócios, em especial a Peter, que proporcionou viabilidade econômica para a execução deste experimento. Agradeço pela confiança depositada e que, certamente, foi recompensada com a confecção desta dissertação.

Ao médico veterinário Leonni Zini pela parceria firmada, disponibilidade de tempo, auxílio na discussão de execução deste experimento e competência.

À Fazenda Abadia, em especial a Willy, gerente da fazenda, e aos funcionários Magno, João, Willian e Willian (“pinga-fogo”) pela ajuda importantíssima oferecida, disponibilidade da utilização de sua infraestrutura, transporte, animais utilizados no experimento e mão de obra disponível.

Em especial, aos meus amigos Uillian, Héctor e Gina pela ajuda importantíssima durante todas as etapas deste experimento. Além, também, de agradecer a todos os ensinamentos que vocês me proporcionaram. Foi uma grande honra ter vocês como companhia durante o experimento e fora dele também.

À professora Rosemary Bastos, por toda paciência e dedicação na ajuda oferecida para execução deste experimento, sendo a mesma responsável pelas mensurações hormonais deste experimento. Obrigado por tudo!

Aos Professores Célia Quirino, Ângelo Burla, Frederico Straggiotti e Cláudio Mello por todos os conselhos, ensinamentos científicos e pessoais - todos eles muito importantes para a minha dissertação e que me fizeram crescer como profissional e também como pessoa.

Aos amigos do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal (LRMGA), em especial à Bruna, Marcus Barreto, Valter, Aylton, Wilder, Paula, Janaína, Aline, Natália, Fernanda e Roger. Um forte abraço a todos e muito obrigado pela atenção, carinho e alegrias promovidas nestes últimos 7 anos. Além de Edgar Mauricio, Diego, Felipe e Bruno, companheiros que já concluíram suas atividades na pós-graduação de ciência animal da UENF, mas que fizeram parte da minha vida acadêmica e durante o mestrado.

Também a todos os funcionários e bolsistas do LRMGA, por sua dedicação ao trabalho e companheirismo.

RESUMO

Esta dissertação objetivou avaliar o efeito da pré-exposição com progesterona (P_4) por 3 e 6 dias em vacas de corte em anestro, submetidas, posteriormente, à inseminação artificial em tempo fixo (IATF) com o intuito de melhorar as taxas de concepção (TC). Verificou-se a taxa de retorno da ciclicidade 30 dias após a inseminação artificial (IA) e a incidência de luteólise prematura por meio de dosagem das concentrações de P_4 . Analisou-se também os parâmetros uterinos que podem prever a fertilidade. Foram utilizadas 74 vacas multíparas da raça Nelore em condição de anestro, apresentando $ECC \geq 2,5$. Foram adotados dois protocolos de IATF com pré-exposição à P_4 : 6D, 3D e controle. No momento da IA foram mensuradas a espessura endometrial (EE) e a classificação do tônus uterino (1 e 2). Nos dias D-20, D-14, D-10, D0, D6, D10 e D16 dos protocolos foram realizadas coletas de plasma para mensuração de P_4 . Após 30 dias da IA, foi realizado o diagnóstico de gestação para se determinar a TC. Os dados foram obtidos pela análise descritiva por meio da média e desvio padrão, exceto para EE, que se realizou o teste t de *Student* e demais dados para correlação de Pearson e teste Qui-Quadrado. Observou-se maior TC para o protocolo 3D (40,00%), o protocolo 6D apresentou 25% de vacas prenhas e o protocolo controle 32%. Em relação à taxa de retorno à ciclicidade das vacas do experimento, após 30 dias da IATF foi de 66,67% das vacas não gestantes dos protocolos 6D e 3D, enquanto que no protocolo controle foi de 82,35% (χ^2 , $P < 0,05$). Os tônus 3 obteve maior TC de 52,94% (χ^2 , $P < 0,01$). Não houve observações pertinentes nas dosagens de P_4 , demonstrando que este hormônio não é a chave para o aumento da TC em protocolos de IATF. As taxas de LP foram de: 21,43%, 28,57% e 28,57% para os grupos 6D, 3D e controle, respectivamente. Foram observadas as seguintes médias e desvio-padrão das mensurações de EE: $8,11 \pm 0,770$ mm, $8,18 \pm 0,725$ mm e $8,61 \pm 0,890$ mm para os grupos 6D, 3D e controle, respectivamente. As vacas prenhas apresentaram EE de $8,2 \pm 1,43$ mm, enquanto que as vacas vazias $8,17 \pm 1,64$ mm de EE. Houve correlação de dados entre os parâmetros das vacas prenhas e vazias entre os dias D6, D10 e D16. Houve efeito do protocolo de IATF na resposta à TC e ao retorno à

ciclicidade neste experimento em vacas de corte, com o ressaltado de que o protocolo 3D foi o melhor em relação ao custo-benefício. O tônus uterino foi qualificado como um importante parâmetro para se observar a fertilidade das vacas. Não se observou alterações pertinentes nas concentrações de P4, aspecto que sugere que este hormônio não seja o único determinante para obter concepção nas vacas de corte e também para minimizar as taxas de LP. Não se observou relação da EE com a fertilidade das vacas. Houve correlações da dosagem de progesterona das vacas prenhas e vazias nos dias D6, D10 e D16.

Palavras-chave: bovinos, reprodução, sincronização da ovulação, pré-exposição e anestro.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the effect of pre-exposure to progesterone (P4) by 3 and 6 days in anestrus beef cows submitted after the fixed time artificial insemination (FTAI) in order to improve conception rates (TC), it was found the rate of return of cyclicity 30 days after artificial insemination (AI) and the incidence of premature luteolysis through P4 dosage concentrations. Were also analyzed if uterine parameters can predict fertility. We used 74 multiparous Nelore cows in anoestrus condition, showing $ECC \geq 2,5$. Adopted by three FTAI protocols with pre-exposure to P4: 6D, 3D and control. At the time of AI were measured endometrial thickness (ET) and the classification of uterine tone (1-4). On days D-20, D-14, D-10, D0, D6, D10 and D16 of the sampling protocols were performed to measure plasma P4. After 30 days of AI were performed pregnancy diagnosis to determine the TC. Data were obtained from the descriptive analysis by mean and standard deviation, except for EE held the Student t test and other data for correlation and Pearson chi-square test. There were larger for TC protocols 3D (40,00%), the protocol 6D had 25% pregnant cows and 32 % control protocol. The rate of return to cyclicity of cows of the experiment after 30 days of FTAI, we may observe that the protocol 6D 66,67% of non-pregnant cows returned to cyclicity, whereas protocols in 3D and control was observed 66%, 67% and 82.35% ($P < 0,05$). The tone 3 and 4 achieved the highest TC, 52,94% and 44,12%, respectively ($\chi^2 P < 0.01$). There were no relevant comments in dosages of P4, showing that this hormone is not the key to increased TC in FTAI protocols. LP rates were: 21,43%, 28,57% and 28,57 % for groups 6D, 3D and control, respectively. We observed the following mean and standard deviation of the measurements of EE: $8,11 \pm 0,770$ mm, $8,18 \pm 0,725$ mm and $8,61 \pm 0,890$ mm for groups 6D, 3D and control, respectively. There were no relevant comments in dosages of P4, showing that this hormone is not the key to increased TC in FTAI protocols. LP rates were: 21,43%, 28,57%, 21,43% and 28,57% for groups 6D, 3D and control, respectively. Pregnant cows showed EE $8,20 \pm 1,43$ mm, whereas the empty cows EE $8,17 \pm 1,64$ mm. Correlation data

between the parameters of pregnant cows and empty days between D6, D10 and D16. There was no effect of pre-exposure of P4 in response to TC and the return to cyclicity in this experiment in beef cows, noting that the protocol 3D had the greatest results. The uterine tone was observed an important parameter to observed the fertility of cows. No relevant changes were observed in the concentrations of P4, suggesting that this hormone is not the sole determinant in the design for beef cows and also to minimize the levels of LP. No relationship was observed in EE with fertility of cows. There were correlations dosage of P4 in pregnant cows and empty days D6, D10 and D16.

Keyword: bovine, reproduction, synchronization of ovulation, pre-exposure, anestrous.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Procedimentos e protocolo utilizados no grupo experimental “6D”.	39
Figura 2- Procedimentos e protocolo utilizados no grupo experimental “3D”.	40
Figura 3- Procedimentos e protocolo utilizados no grupo experimental “controle”.....	41
Figura 5- Classificação do tônus uterino e a TC obtida pelas vacas do experimento, sem distinguir o protocolo utilizado.....	53
Figura 6- Distribuição absoluta dos diferentes graus de tônus uterinos das vacas prenhas nos diferentes protocolos experimentais.....	53
Figura 7- Concentração plasmática de P ₄ observada das vacas prenhas e vazias nos protocolos de IATF experimentais nos diferentes dias de coleta de plasma.....	55
Figura 8- Taxa de LP observada nos diferentes protocolos experimentais....	58
Figura 9- Espessura endometrial mensurada de cada protocolo experimental (Média ± desvio-padrão).....	60
Figura 10 - EE no momento da IA das vacas prenhas e vazias do experimento, independente do protocolo utilizado (Média ± desvio-padrão)...	61
Figura 11- Valores de correlação encontrados entre os dados apresentados do experimento nas vacas prenhas.....	62
Figura 12- Valores de correlação encontrados entre os dados apresentados do experimento nas vacas vazias.....	62
Figura 13- Correlação da concentração plasmática de P ₄ entre os dias D6 e D10 das vacas prenhas, independente do protocolo utilizado ($r=0,73^*$).....	63
Figura 14- Correlação da concentração plasmática de P ₄ entre os dias D6 e D16 das vacas prenhas, independente do protocolo utilizado ($r=0,80^*$).....	64
Figura 15- Correlação da concentração plasmática de P ₄ entre os dias D6 e D10 das vacas vazias, independente do protocolo utilizado ($r=0,80^*$).....	64
Figura 16- Correlação positiva da concentração plasmática de P ₄ entre os dias D10 e D16 das vacas vazias, independente do protocolo utilizado	

($r=0,74^*$).....	65
Figura 17- Correlação positiva da concentração plasmática de P4 entre os dias D6 e D16 das vacas vazias, independente do protocolo utilizado	
($r=0,71^*$).....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- TC observada entre os protocolos de pré-exposição de progesterona intravaginal de IATF em vacas de corte da raça Nelore com bezerro ao pé, no início do pós-parto.....	48
Tabela 2- Taxa de retorno à ciclicidade ovariana observada após 30 dias entre os protocolos de pré-exposição de IATF em vacas de corte em anestro da raça Nelore com bezerro ao pé, no início do pós-parto.....	51

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidônico
<i>IFN-τ</i>	Interferon Tau
CL	Corpo lúteo
COX	Ciclooxigenase
E ₂	Estradiol
EE	Espessura Endometrial
FSH	Hormônio Folículo Estimulante
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofina
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
i.m.	Intramuscular
LP	Luteólise Prematura
LH	Hormônio Luteinizante
OT	Ocitocina
P ₄	Progesterona
PGF _{2α}	Prostaglandina F2 α
TC	Taxa de concepção

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVO GERAL	16
2.2	OBJETIVOS GERAIS	16
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3	REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1	CICLO ESTRAL	17
3.2	DESENVOLVIMENTO FOLICULAR E EIXO HIPOTALÂMICO- HIPOFISÁRIO-OVARIANO	19
3.3	ANESTRO PÓS-PARTO	21
3.3.1	Presença do bezerro e amamentação	22
3.3.2	Estado nutricional e condição corporal	24
3.3.3	Involução uterina	25
3.3.4	Número de partições	26
3.4	COMPROMETIMENTO DA LIBERAÇÃO DE LH	26
3.5	LUTEÓLISE FISIOLÓGICA	27
3.6	LUTEÓLISE PREMATURA E CICLO CURTO	28
3.7	SÍNTESE E FUNÇÃO DA PROSTAGLANDINA	30
3.8	O PAPEL DA OCITOCINA	31
3.9	PRÉ-EXPOSIÇÃO DE PROGESTERONA	32
3.10	AÇÃO HORMONAL SOBRE O ÚTERO E ESPESSURA ENDOMETRIAL	35
3.11	INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO	36
4	MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1	ANIMAIS E MANEJO	38
4.2	PROTOCOLOS DE PRÉ-EXPOSIÇÃO DE PROGESTERONA	39
4.3	COLETA DO SANGUE E ARMAZENAMENTO DO PLASMA	40
4.4	DOSAGEM DE PROGESTERONA	43
4.5	AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA	44
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	46
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
6	CONCLUSÕES	67
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 124/2013

Gomes, Tiago Botelho

Efeito da pré-exposição de progesterona na taxa de concepção em vacas de corte submetidas à IATF / Tiago Botelho Gomes. – 2013.
80 f. : il.

Orientador: Reginaldo da Silva Fontes.

Dissertação (Mestrado - Ciência Animal)– Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2013.

Bibliografia: f. 65 – 80.

1. Bovino 2. Reprodução animal 3. Sinconização da ovulação 4. Pré-exposição 5. Anestro I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

CDD – 636.2082

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui o maior rebanho bovino comercial do mundo, ultrapassando 212 milhões de cabeças (IBGE, 2012). Ainda assim, a bovinocultura de corte exige a obtenção de um bezerro/vaca/ano para que seja uma atividade sustentável e competitiva. Porém, fatores como o prolongado anestro pós-parto e falhas na detecção de estro são as principais limitações para que tal objetivo seja atingido (YAVAS e WALTON, 2000).

O prolongamento do período de anestro pós-parto em bovinos leva a perdas econômicas por aumentar o intervalo parto-concepção, o que, conseqüentemente, compromete a eficiência reprodutiva, impedindo que se atinja a meta ideal de um parto/vaca/ano. Isto causa uma diminuição do número bezerros nascidos por ano, tendo como maior consequência à redução nas taxas de desmama nas propriedades de corte.

Nesta perspectiva, no intuito de aumentar a eficiência reprodutiva de bovinos, podem ser empregadas biotécnicas reprodutivas para diminuir o período de anestro pós-parto. Entre estas, pode-se destacar o uso de tratamentos hormonais para indução e sincronização de cio e ovulação, denominada inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

Em relação ao estado reprodutivo do rebanho bovino brasileiro, aproximadamente metade se encontra em anestro no início do pós-parto, respeitando obrigatoriamente os 30 dias de involução uterina (MADUREIRA *et al.*, 2006).

O fato de se encontrar uma grande proporção de fêmeas bovinas não gestantes no início do pós-parto pode ser explicado devido ao fato de que, após a primeira ovulação pós-parto, em uma considerável quantidade de animais, o ciclo estral dura, geralmente, menos que oito dias. Assim, esses animais não dão continuidade à gestação, devido à regressão prematura do corpo lúteo (CL)

(COPELIN *et al.*, 1987), causada pela liberação prematura de prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$) pelo endométrio. Sabe-se que o reconhecimento materno da gestação, o qual ocorre aproximadamente no 17º dia do ciclo estral, é responsável em evitar a liberação da $\text{PGF}_{2\alpha}$ no útero, podendo a gestação dar continuidade. Devido a isso, a taxa de concepção (TC) é baixa quando as vacas são inseminadas ou cobertas na primeira ovulação pós-parto (VASCONCELOS *et al.*, 2004; VASCONCELOS *et al.*, 2009).

Muito já foi feito com o objetivo de evitar a regressão prematura do CL após a primeira ovulação pós-parto em bovinos. Uma prévia exposição à progesterona (P_4) obtém êxito em reduzir, consideravelmente, as taxas dos animais que apresentaram luteólise prematura (LP). Porém, também se observou que estes animais que são submetidos apenas a uma prévia exposição de P_4 possuem baixas taxas de ovulação, possivelmente, causada pela deficiência na sincronização da ovulação e reestabelecimento da liberação de hormônios responsáveis para o retorno da ciclicidade.

Além disso, para que se obtenha uma ideal eficiência reprodutiva é importante que o ambiente uterino esteja preparado para a implantação e desenvolvimento do embrião. Métodos que permitam avaliar adequadamente as condições uterinas antes da fertilização são úteis para prever a fertilidade e diminuir os riscos de perdas embrionárias precoces. Entre esses métodos pode-se destacar a mensuração da espessura endometrial (EE), que é de fácil aplicação e não invasivo, e que pode ser realizada no momento da inseminação artificial (IA).

Sendo assim, há a necessidade de se desenvolver novos protocolos de sincronização da ovulação com o intuito de se reestabelecer a ciclicidade, reduzir a ocorrência de LP e verificar se as condições uterinas estão adequadas no momento da IA, para que se possa, conseqüentemente, alcançar taxas satisfatórias na TC em bovinos de corte no início da estação de monta a partir dos diferentes protocolos de IATF deste experimento, obtendo, assim, uma adequada eficiência reprodutiva do rebanho.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito da pré-exposição de P₄ por 3 e 6 dias em um programa de IATF em vacas de corte lactantes e em anestro no início do pós-parto, com o intuito de melhorar as TC no início da estação de monta.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar as TC de ambos os protocolos de IATF;
- Verificar a taxa de retorno à ciclicidade aos 30 dias pós IA das vacas nos diferentes protocolos de IATF deste experimento;
 - Avaliar se os diferentes tempos (3 e 6 dias) de pré-exposição à P₄ proporciona a prevenção da LP a partir do acompanhamento das concentrações plasmáticas de P₄ durante o protocolos experimentais de IATF;
 - Avaliar e comparar, entre os grupos experimentais, a fertilidade das vacas submetidas aos protocolos de IATF no período da IA, por meio da avaliação do tônus uterino e EE;
 - Correlacionar os parâmetros analisados neste experimento (dosagens de P₄ nos diferentes dias de mensuração hormonal, EE, tônus uterino, TC e protocolos de IATF utilizados).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CICLO ESTRAL

O ciclo estral representa o período compreendido entre dois estros em fêmeas cíclicas não gestantes. Em bovinos, após a puberdade, o estro ocorre de forma cíclica e recorrente, em intervalo médio de 17 a 25 dias. A gestação ou limitações nutricionais severas poderão provocar interrupção da ciclicidade (FORDE *et al.*, 2011).

Didaticamente, o ciclo estral é dividido em quatro fases distintas: 1) pró-estro; 2) estro; 3) metaestro e 4) diestro (REECE, 2006). Uma divisão mais simples pode ser utilizada, sendo a fase folicular ou estrogênica, que compreende desde o crescimento folicular até a ovulação e a fase luteínica ou progestacional, compreendida entre o surgimento do CL até sua regressão (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Bovinos são poliéstricos anuais, com manifestação de comportamento a cada 21 dias, em média. O ciclo estral é regulado pelos hormônios: hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), sintetizado no hipotálamo e sintetizado na eminência mediana para o primeiro plexo capilar, hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH), sintetizados e secretados pela hipófise anterior, P₄, estrógeno e inibina, sintetizados e secretados pelos ovários, além da PGF_{2α}, sintetizada e secretada pelo útero. Esses hormônios atuam através de um sistema de *feedback* negativo e positivo que regulam o ciclo estral (REECE, 2006).

Segundo Moenter *et al.* (1992), o GnRH atinge a hipófise através do sistema porta hipotalâmico-hipofisário. O GnRH liga-se a receptores hipofisários ativando proteínas reguladoras (sistema proteína Kinase), que resultam em liberação de

FSH e LH (WECK *et al.* 1998). O FSH é armazenado por curtos períodos no interior das vesículas secretórias citoplasmáticas, enquanto o LH é armazenado por período maior de tempo (FARNWORTH, 1995).

Durante a fase folicular do ciclo, após a regressão do CL, a concentração plasmática de P_4 se reduz. O aumento da concentração de estradiol (E_2), derivado do folículo dominante induz a liberação de GnRH-LH e o comportamento típico de estro com receptividade sexual e aceitação da monta.

Segundo Youngquist e Threlfall (2007), somente quando a concentração de P_4 é baixa, os pulsos de LH, com maior frequência e intensidade irão permitir continuidade no desenvolvimento folicular e ovulação do folículo dominante. A ovulação ocorre 10-14 horas após o término do estro, quando inicia a fase lútea. O início da fase lútea ou progestacional é conhecido por metaestro, durando cerca de 3 a 4 dias. Essa fase é caracterizada pela formação do CL a partir da luteinização das células da granulosa e da teca, e induzida pelo LH. Subsequentemente segue-se a fase de diestro, com concentração de P_4 elevada. Nessa fase ocorre início do desenvolvimento folicular, por ação do FSH (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Entretanto, os folículos que crescem durante a fase lútea entram em atresia, pois a concentração elevada de P_4 permite somente a secreção de LH em pulsos de maior amplitude e menor frequência, impedindo, assim, a maturação folicular completa, seguida por ovulação (FORDE *et al.* 2011). No diestro, o CL produz P_4 que é o hormônio responsável pela manutenção da gestação. Se o óvulo for fertilizado, o CL será mantido. Caso contrário, ocorrerá a regressão do CL por ação da $PGF_{2\alpha}$ secretada pelo endométrio uterino. Após a luteólise reinicia a fase folicular, durante o proestro (REECE, 2006).

3.2 DESENVOLVIMENTO FOLICULAR E EIXO HIPOTALÂMICO-HIPOFISÁRIO-OVARIANO

Ao final da gestação e durante o início do pós-parto o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovariano encontra-se sobre um forte *feedback* negativo causado pelo E₂. Uma baixa liberação do GnRH é observada durante este período, devido à grande produção de esteróides placentários (principalmente o E₂ e a P₄) durante a fase final de gestação, tendo um forte efeito negativo sobre o hipotálamo. Com isso, ocorre decréscimo da concentração de LH, não ocasionando a ovulação no início do pós-parto (SHORT *et al.*, 1990).

Após o parto, as elevadas concentrações dos hormônios sintetizados ao final da gestação inibem a liberação de gonadotropinas e determinam supressão da atividade ovariana. Para ocorrer a primeira ovulação e o retorno dos ciclos estrais, deve ser restabelecida a secreção de LH necessária para maturação final do folículo (BUTLER, 2006).

Após o parto, a hipófise anterior está menos sensível à ação das gonadotrofinas (BÓ, 2008). Neste mesmo período, a concentração de FSH aumenta drasticamente, enquanto que a concentração de LH permanece muito baixa (YAVAS & WALTON, 2000).

São observados pulsos de FSH, que logo se mantêm constantes com flutuações similares às do ciclo estral, já 4º dia pós-parto. Esta elevação da concentração de FSH produz a emergência da primeira onda folicular, entre 2 a 7 dias após o parto. A dominância folicular é observada entre os dias 10 e 21 pós-parto, porém, este folículo dominante não tem capacidade ovulatória. Entende-se que a inadequada frequência dos picos de LH resulta em uma baixa secreção de estrógeno, e, que com isso, não é desencadeado um pico pré-ovulatório de LH, sendo que o folículo dominante começa a regredir dando lugar ao crescimento de uma nova onda folicular. Essas reservas de LH se restabelecem gradualmente depois do dia 15 a 30 pós-parto (YAVAS e WALTON, 2000).

Segundo Bó (2008), uma ovulação somente ocorrerá quando os pulsos de LH aumentarem a, aproximadamente, um pulso a cada 40 - 60 minutos. Com esta alta frequência de LH estimula-se uma máxima síntese de E₂, que, por *feedback* positivo sobre o eixo hipotalâmico-hipofisário, desencadeiam o pico pré-ovulatório de LH e FSH.

Durante essa fase inicial de pós-parto, as vacas teriam concentrações séricas de FSH suficiente, uma vez que a concentração de LH parece ser dependente da presença da cria e do estresse ocasionado pelo ambiente. Depois da segunda ou terceira semanas após o parto, a liberação pulsátil de LH pode ser aumentada em vacas de corte que foram separadas de seus bezerros e nas vacas leiteiras ordenhadas, resultando na retomada da ovulação. Nas vacas com bezerro ao pé, entretanto, os efeitos supressores da presença do bezerro e da mamada sobre a secreção hipotalâmica de GnRH continuam prevenindo o aumento da liberação de LH pulsátil (WILLIAMS, 2005).

Durante o período de frequente amamentação, as concentrações séricas de prolactina são elevadas e inversamente relacionadas às concentrações circulantes de LH e FSH, entretanto, o efeito inibitório sobre a liberação de LH durante a amamentação está associado ao reconhecimento do terneiro através do olfato e da visão, e não exclusivamente ao ato da sucção dos tetos (GAZAL *et al.*, 1998).

Segundo a revisão de literatura realizada por Yavas e Walton (2000), a prolactina não está associada à falta de ovulação pós-parto em vacas de corte. Foram realizados testes utilizando um bloqueador de prolactina (dopamina) em vacas durante o pós-parto, mas a concentração de gonadotrofinas e a duração do anestro não foram alteradas. O mecanismo envolvido na supressão da liberação de LH, em função da presença do bezerro, se dá através da ação dos opióides endógenos durante o período de anestro pós-parto.

A secreção do LH é, em parte, controlada pelos efeitos de esteróides, como o E₂ e a P₄, mas principalmente, pelo efeito positivo do E₂ que induz o pico de LH desde que a fêmea já tenha apresentado estro anteriormente. Em fêmeas em anestro, a sensibilidade ao efeito negativo do E₂ sobre o LH é aumentada pela presença da cria ou devido à subnutrição, que leva à diminuição da glicose

circulante, bem como da insulina, IGF-I e IGFBP (STAGG *et al.*, 1998; MADEJ *et al.*, 2005).

3.3 ANESTRO PÓS-PARTO

O anestro pós-parto é um período de transição, no qual o eixo hipotalâmico-hipofisário-ovário-uterino da vaca se recupera de uma anterior prenhez, sendo um evento fisiológico normal que ocorre logo após o parto e tornando-se anormal quando excede o tempo esperado. As primeiras três semanas após o parto são necessárias para a involução uterina e reposição dos estoques hipofisários do LH e início do desenvolvimento folicular (YAVAS e WALTON, 2000).

A condição de anestro pós-parto do rebanho brasileiro se encontra em aproximadamente 50% das vacas em início de estação de monta (MADUREIRA *et al.*, 2006). Vacas que permanecem nessa condição e concebem apenas ao final de um grande período da estação de monta possuirão, conseqüentemente, bezerros com menor peso e serão mais jovens quando desmamados (SANTOS e SÁ FILHO, 2006).

A ausência de um CL e o tamanho reduzido dos ovários, além da falta de sinais de estro, durante período de tempo prolongado, caracteriza o anestro pós-parto (WILTBANK *et al.*, 2002; AHUJA *et al.*, 2005; MADUREIRA *et al.*, 2006).

A duração do anestro pós-parto pode ser influenciada por quatro fatores principais: balanço energético, presença do bezerro, estação do ano e número de partos. Influem também a raça, presença de touro, gemelaridade, distocia e retenção de placenta (YAVAS e WALTON, 2000).

A fisiologia da condição anovulatória que ocorre em novilhas na fase pré-púbere e em vacas no período pós-parto é muito semelhante. Nestes casos, o crescimento folicular ultrapassa a fase de divergência e atinge a dominância; no entanto, não ocorre ovulação: há a perda da dominância, atresia do folículo

dominante e emergência de nova onda de crescimento folicular (STAGG *et al.*, 1995).

A intensidade do balanço energético negativo em bovinos de leite (BUTLER, 2000) e corte e/ou a amamentação em bovinos de corte (GARCIA-WINDER, 1984) aumentam o efeito inibitório do E₂ na secreção do GnRH pelo hipotálamo durante o anestro pós-parto. Isto acarreta redução dos pulsos de LH e falha no crescimento folicular final. A menor frequência de pulsos de LH impede a ocorrência do pico pré-ovulatório de E₂, GnRH e LH, e, conseqüentemente, a ovulação (YAVAS e WALTON, 2000).

Levando em consideração os 40 a 60 dias de recuperação da capacidade reprodutiva que a vaca criada sob sistema de pastagem possui depois do parto, essa dispõe de somente um ou doisaios para emprenhar e manter o intervalo entre partos de 12 meses (BÓ, 2004). No período puerperal, a vaca deverá evoluir de forma a permitir que sua função reprodutiva esteja normalizada tão cedo quanto possível, a partir de uma sequência de alterações endócrinas e físicas do aparelho reprodutivo. Assim, a possibilidade de uma fêmea conceber durante esse período, permitirá atingir o objetivo econômico da exploração com um parto por vaca/ano (HORTA, 1995).

As principais causas do longo período do anestro pós-parto em vacas serão elucidadas a seguir.

3.3.1 Presença do bezerro e amamentação

Em vacas manejadas com bezerros ao pé, no início de pós-parto, os efeitos da amamentação na supressão da secreção do GnRH hipotalâmico continuam a impedir a liberação pulsátil do LH, fato que não se verifica em vacas de corte que desmamaram precocemente o bezerro (FRANCO *et al.*, 2004).

A separação dos bezerros das vacas em definitivo ou por determinado tempo (*Shang*) pode auxiliar no retorno das vacas ao cio após o parto, pois a presença

do bezerro aumenta a sensibilidade hipotalâmica da vaca em relação ao *feedback* negativo do E₂, e causa aumento da síntese de opióides endógenos, aspecto que provoca a supressão de secreção de GnRH e LH por períodos variáveis (WILLIAMS, 2005). A remoção do estímulo da amamentação provoca aumento da liberação de LH 24 horas após a remoção do bezerro, e, em 48 horas, a concentração desse hormônio nas vacas em anestro chega a valores semelhantes aos observados nas vacas cíclicas (PESSOA, 1999).

Sabe-se, hoje, que os opióides endógenos (encefalinas, dinorfinas e endorfinas), contidos em pequenos neurônios do corpo estriado da área pré-óptica do hipotálamo, hipófise, adrenal e células foliculares dos ovários, entre outros sítios, são os principais responsáveis por tais efeitos deletérios (PESSOA, 1999), sendo a β -endorfina o mais potente (FRANCO *et al.*, 2004).

É importante salientar que, caso haja a separação dos bezerros de suas mães por 48 horas, os bezerros devem ficar fora do alcance visual das vacas, pois esse tipo de contato também é responsável pela liberação dos opióides endógenos (LAMB *et al.*, 1997). Entende-se que a remoção do bezerro por 48 horas é inadequada para conseguir a ovulação em mais de 30% das vacas anovulatórias. Isso ocorre porque muitas vacas que respondem à retirada do bezerro serão novamente suprimidas do estágio pela mamada se o bezerro retornar depois de 48 horas. Além disso, a primeira ovulação geralmente não é acompanhada por estro. Nesse sentido, como não é prudente deixar os bezerros longe das vacas por mais de 48 horas, devido a problemas de saúde, recomenda-se o *shang* apenas quando se utilizar concomitantemente protocolos de sincronização que tendam a induzir a ovulação em vacas anovulatórias (WILLIAMS, 2005).

3.3.2 Estado nutricional e condição corporal

A subnutrição e a condição corporal pobre são alguns dos principais fatores que determinam a duração do anestro pós-parto, especialmente quando as vacas são criadas a campo. A nutrição pode afetar seriamente o restabelecimento da atividade ovariana pós-parto, tanto em vacas de corte como em de leite, resultando em um atraso no início da estação reprodutiva.

O baixo limite alimentar durante o inverno pode levar ao balanço metabólico negativo no momento do parto. Segundo Lobato e Vaz (2005), as elevadas taxas de lotação nas pastagens das propriedades rurais refletem negativamente a resposta reprodutiva de vacas. Pois uma ingestão insuficiente de carboidratos, proteínas e outros nutrientes, são necessários para manutenção do peso corporal, podendo ocorrer uma ausência ou atraso no começo do ciclo estral logo após o parto. O balanço energético negativo reduz a disponibilidade de glicose e aumenta a mobilização de reservas corporais. Tanto o metabolismo basal, como a movimentação do animal, bem como o crescimento e as reservas energéticas básicas, têm prioridade sobre os processos reprodutivos, como o reinício da atividade cíclica e o estabelecimento e manutenção da gestação (DE CASTRO, 2002).

Alguns estudos nos Estados Unidos e Austrália observaram que há uma correlação negativa entre o aumento da ingestão de alimentos e a concentração sérica do E_2 e P_2 na circulação periférica em vacas lactantes (WILTBANK *et al.*, 2001; SANGSRITAVONG *et al.*, 2002; VASCONCELOS *et al.*, 2003).

A condição corporal favorável da vaca ao parto é de fundamental importância para o restabelecimento da ciclicidade ovariana pós-parto (VEGAS, 2005). A atividade reprodutiva pós-parto é, portanto, um reflexo do estado nutricional e da condição corporal no pré-parto e está mais influenciada pela ingestão energética antes do parto do que no pós-parto (ALONSO e BÓ, 2008).

3.3.3 Involução uterina

A reestruturação do trato genital é fundamental para que se possa haver uma nova gestação que envolva alguns processos como: expulsão do tecido placentário, redução do volume uterino, perda de líquidos e restituição tissular. A involução uterina ocorre de forma mais rápida em vacas primíparas e em vacas em lactação, e, normalmente, se completa entre a quarta e quinta semana pós-parto. Todavia, problemas como a distocia, retenção de placenta e infecções uterinas podem retardar esta involução (DE CASTRO, 2002).

O tempo requerido para a involução uterina varia de quatro a seis semanas (HAFEZ e HAFEZ, 2004). A eliminação do tecido caruncular se dá cerca de 14 dias após o parto e a regeneração do epitélio superficial, que recobre as carúnculas, se completa no 30º dia pós-parto (GREGORY e ROCHA, 2004). O intervalo do parto à involução uterina pode ser encurtado pela amamentação. Já que, vacas em amamentação apresentam intervalos mais curtos para a involução uterina (HAFEZ e HAFEZ, 2004).

Tanto a ocitocina (OT) como a $PGF_{2\alpha}$ possuem grande influência sobre a involução uterina, pois os mesmos intervêm na regulação da contratilidade do útero e auxiliam na perda e reparação dos tecidos. As concentrações circulantes de OT aumentam marcadamente logo após o parto. Essa grande liberação de OT é causada pelo estímulo que o bezerro exerce durante a mamada. A involução uterina inicia-se, ou está determinada pela síntese de $PGF_{2\alpha}$, que, por sua vez é regulada pelo E_2 e cortisol fetal (BÓ, 2008).

Segundo Short *et al.*, (1974) apud Bó (2008), a infertilidade nos primeiros 20 dias depois do parto é muito mais provocada por uma barreira física do útero não involuído, pelo transporte do sêmen e pela implantação do embrião, do que por defeitos inerentes ao oócito ou à outros mecanismos fisiológicos.

3.3.4 Número de partições

O número de partições tem influência na duração do período de anestro, sendo que com o decorrer das partições durante a vida útil da vaca, a duração do anestro tende a diminuir (BELLOWS *et al.*, 1982).

O intervalo pós-parto geralmente é mais longo em vacas primíparas do que em multíparas (YAVAS e WALTON, 2000), devido ao balanço energético negativo ser mais pronunciado naquelas (BELLOWS *et al.*, 1982). Este maior período de anestro também pode estar relacionado a uma maior porcentagem de vacas primíparas que apresentem LP, devido a essa categoria animal apresentar-se em fase de crescimento após o parto.

3.4 COMPROMETIMENTO DA LIBERAÇÃO DE LH

Para que ocorra a ovulação do folículo dominante, a frequência dos pulsos de LH deve ser de aproximadamente 1 pulso por hora (BÓ *et al.*, 2003). A ausência ou a inadequada pulsatilidade de LH faz com que essas estruturas não se desenvolvam além do diâmetro da divergência folicular.

Wiltbank *et al.*, (2002) especularam que zebuínos podem apresentar deficiência de FSH no período pós-parto. Os autores se basearam no estudo de Ruiz-Cortez e Olivera-Angel (1999), no qual se verificou que folículos de vacas zebuínas não alcançavam diâmetros superiores a 6 mm durante o anestro pós-parto. Contudo, em estudos posteriores sobre a divergência folicular em Nelore (GIMENES *et al.*, 2005; SARTORELLI *et al.*, 2005; CASTILHO *et al.*, 2006), constatou-se que o folículo de *Bos indicus* atinge a dominância em torno de 6 mm de diâmetro, menor do que o relatado para *Bos taurus* (8,5mm).

Portanto, condições anovulatórias frequentemente verificadas em zebuínos não parecem estar associadas à deficiência de FSH, que promove o crescimento até a divergência. Esses dados são sugestivos de que o anestro pós-parto em bovinos zebuínos e mestiços está ligado ao comprometimento da liberação de LH responsável pela continuidade do crescimento e indução da ovulação do folículo dominante. Sendo assim, especula-se que em fêmeas zebuínas e mestiças em anestro severo, com comprometimento na liberação de LH, os folículos não atingem diâmetros superiores a 6 mm. Já em fêmeas taurinas nas mesmas condições de anestro, os folículos crescem até 8,5 mm de diâmetro.

3.5 LUTEÓLISE FISIOLÓGICA

Em vacas o CL é responsável pela síntese de OT e P₄, que promove a manutenção da gestação até o 200º dia. Nas fêmeas que após o acasalamento que não se tornaram gestantes, a regressão do CL (luteólise) assume um papel essencial no controle do ciclo estral e na manutenção da ciclicidade normal, permitindo o desenvolvimento de um novo folículo ovulatório e uma nova chance de concepção (SKARYNSKI *et al.*, 2008).

McCracken e cols. (1999) relataram que a luteólise ocorre em duas fases distintas: uma funcional, caracterizada pela diminuição da secreção de P₄, seguida por outra estrutural, na qual as células do CL sofrem involução, originando, assim, uma estrutura chamada de corpo albicans, que pode perdurar por várias semanas no ovário.

Nos animais não gestantes a luteólise é causada pela PGF_{2α}, secretada pelo útero e liberada em pulsos de intervalo de seis a oito horas (SILVIA *et al.*, 1991).

No início do ciclo estral, os altos níveis de E₂ pré-ovulatório secretados pelo folículo dominante causam inibição dos receptores de E₂ endometriais, levando à redução nos níveis dos receptores de OT endometriais. Na metade do ciclo estral, a P₄ secretada pelo CL se liga aos receptores de P₄ endometriais, inibindo a

expressão dos receptores de E_2 e de OT endometriais. A inibição dos receptores de E_2 também contribui para redução nos níveis séricos dos receptores de OT endometriais. Ao mesmo tempo, a P_4 atua na cascata do ácido araquidônico (AA), propiciando o acúmulo de $PGF_{2\alpha}$.

Desse modo, por volta da segunda metade do ciclo estral, a exposição contínua à P_4 culmina com a inibição da expressão dos receptores de P_4 , acabando, assim, com o bloqueio à expressão dos receptores de E_2 e receptores de OT. Assim, inicia-se a expressão dos receptores de E_2 , que ao se ligarem ao E_2 secretado pelo folículo dominante potencializam a expressão dos receptores de OT endometriais. A ação da P_4 sobre a síntese e o acúmulo de $PGF_{2\alpha}$ ainda se mantêm. No momento da luteólise, o centro gerador de pulsos de OT localizado na neuro-hipófise secreta pulsos de baixa amplitude e alta frequência de OT, a qual se liga aos receptores de OT endometriais, estimulando a secreção de $PGF_{2\alpha}$ (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2008).

A $PGF_{2\alpha}$ secretada pelo endométrio atinge o CL, levando a liberação de grande concentração de OT luteal. Esta se liga aos receptores de OT endometriais, estimulando maior secreção de $PGF_{2\alpha}$, estabelecendo-se um ciclo de retroalimentações positivas entre OT luteal e $PGF_{2\alpha}$, e, subsequente, luteólise fisiológica (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2008).

3.6 LUTEOLISE PREMATURA E CICLO CURTO

Considera-se LP quando essa ocorre antes do 16^º dia do ciclo estral, ou seja, antes do momento em que o endométrio inicia a secreção pulsátil de $PGF_{2\alpha}$ em um ciclo estral de duração normal. Nesse caso, o intervalo interestros é mais curto que a média observada, sendo, portanto, denominado ciclo curto. A ocorrência de ciclos curtos é bastante comum em vacas em anestro após ovulações induzidas por desmamas, desmamas associadas a tratamento com GnRH, gonadotrofina coriônica humana (hCG) e em novilhas após a primeira

ovulação na puberdade (YAVAS e WALTON, 2000). Este fator é sempre acompanhado por baixas TC, pois o CL regride quando o embrião ainda não é capaz de produzir *interferon-tau* (IFN- τ) suficiente para bloquear a luteólise (MANN *et al.*, 2001), ocasionando morte embrionária precoce. Nesses casos, a luteólise ocorre assim que o CL se torna responsivo à PGF $_{2\alpha}$, ou seja, no sexto dia do ciclo estral (HENRICKS *et al.*, 1974).

Stagg *et al.* (1998) verificaram que, após a primeira ovulação pós-parto em vacas leiteiras, há a ocorrência de ciclos curtos (<16 dias) em 85% das vacas, sendo que 12% das vacas tiveram ciclos de duração normal (18 a 24 dias) e 3% de ciclos longos (>24 dias).

Em 82% (STAGG *et al.*, 1995) e 78% (MURPHY; BOLAND; ROCHE, 1990) dos animais ocorre um ciclo de menor duração do que o normal, com média de $12,1 \pm 1,2$ dias e 7-10 dias (ODDE *et al.*, 1980).

Diversas possibilidades já foram levantadas visando explicar a ocorrência de ciclos curtos, entre elas: (1) Desenvolvimento inadequado do folículo ovulatório (RAMIREZ-GODINEZ *et al.*, 1981); (2) suporte gonadotrófico inadequado (MANNS *et al.*, 1983); (3) inabilidade do CL em responder às gonadotrofinas (KESLER *et al.*, 1981); (4) estímulo luteolítico prematuro (PULGISI *et al.*, 1979); (5) maior sensibilidade do CL a substâncias luteolíticas (TROXEL e KESLER, 1984).

Em bovinos, a ocorrência de ciclo curto no início da puberdade ou no restabelecimento da ciclicidade no pós-parto parece estar associada à ovulação sem prévia exposição à P $_4$. Os resultados mostram que o segundo ciclo estral subsequente ao ciclo curto apresenta duração normal, indicando que a exposição à P $_4$ antes da ovulação é um fator determinante na duração do subsequente CL (SÁ FILHO e VASCONCELOS, 2008).

3.7 SÍNTESE E FUNÇÃO DA PROSTAGLANDINA

A $PGF_{2\alpha}$ é um eicosanóide derivado do AA, constituinte da camada de fosfolípídeos da membrana celular, que é liberado pela ação da enzima fosfolipase-A. Após sua liberação, o AA sofre redução pelas enzimas do grupo das ciclooxigenases (COX-1 e COX-2), formando um composto intermediário chamado PGG, que é pouco estável e logo sofre peroxidação pela enzima ciclooxigenase (COX), sendo reduzido à PGH₂, o substrato para diversos tipos de prostaglandinas (BINELLI *et al.*, 2005; WATHES *et al.*, 2007).

De acordo com Burns e cols. (1997), quando a OT se liga ao seu receptor na membrana da célula endometrial, ocorre o acoplamento deste à proteína G, ativando a fosfolipase C, que cliva a molécula de fosfatidil-inositol bifosfato e origina inositol trifosfato e diacilglicerol. O inositol trifosfato, ao se ligar a receptores presentes no retículo endoplasmático, causa a entrada de íons de cálcio no citosol, culminando com a ativação da proteína quinase C que fosforila a fosfolipase A₂. Esta última, por sua vez, e a aciltransferase acil:CoA:lisofosfolípídeo clivam o AA derivado de fosfolípídeos de membrana (BURNS *et al.*, 2000; NORMAN e POYSER, 2000).

Em seguida, o AA livre é convertido a prostaglandina H₂ (PGH₂) pela enzima COX. Finalmente, a PGH₂ é convertida à $PGF_{2\alpha}$ pela ação da enzima prostaglandina sintetase. São conhecidas duas isoformas de COX que catalisam a conversão de AA à PGH₂: a COX-1, que é expressa constitutivamente (COHN *et al.*, 1997), além da COX-2, que se expressa em vários tecidos e é a principal responsável pela produção de PGH₂ no endométrio (SIMON, 1999).

Em vacas cíclicas, as células epiteliais endometriais luminais, que se localizam na região intercaruncular do epitélio luminal, são as de maior capacidade de produção de $PGF_{2\alpha}$, secretando-a através de sua membrana

basolateral (SHELDRIK *et al.*, 1993; KIM e FORTIER, 1995; ASSELIN *et al.*, 1996; ASSELIN *et al.*, 1998; SKARZYNSKI *ET al.*, 2000).

3.8 PAPEL DA OCITOCINA

Nos ruminantes, a OT é secretada principalmente pela hipófise posterior e pelo CL. Seu papel na luteólise ainda não é exatamente compreendido, todavia, as observações de que a administração de OT durante o ciclo estral pode reduzir a duração da mesma (ARMSTRONG e HANSEL, 1959), de que pulsos de OT ocorrem concomitantemente a pulsos de $\text{PGF}_{2\alpha}$ durante a luteólise (VIGHIO e LIPTRAP, 1986) e de que a OT estimula agudamente e a produção de $\text{PGF}_{2\alpha}$ pelo endométrio de ruminantes a partir do período final da fase luteínica (ROBERTS *et al.*, 1976) sugerem que a OT está envolvida na regulação da luteólise em bovinos. A hipótese mais aceita atualmente sobre a ação da OT na luteólise foi proposta por McCracken *et al.*, (1999), os quais consideram a OT como o hormônio responsável pela secreção pulsátil de $\text{PGF}_{2\alpha}$, sendo o mesmo precedente à luteólise.

Segundo estes autores, próximo ao final da fase luteal, ocorre inibição dos receptores de P4 na hipófise e endométrio, permitindo ação do E2, o qual estimula a hipófise posterior a secretar pulsos de baixa concentração e alta frequência de OT. Esta, secretada pela hipófise se liga aos seus receptores endometriais e estimula a secreção de pequenas quantidades de $\text{PGF}_{2\alpha}$, que ainda não são suficientes para causar luteólise, mas induzem a secreção de parte da OT estocada no CL. Essa liberação suplementar de OT amplifica a produção endometrial de $\text{PGF}_{2\alpha}$, formando-se um ciclo de retroalimentações positivas entre OT e $\text{PGF}_{2\alpha}$ que resulta na liberação de pulsos de alta amplitude de $\text{PGF}_{2\alpha}$, os quais levam à regressão do CL pela ação da $\text{PGF}_{2\alpha}$. Portanto, a implicação de responsividade à OT pelo endométrio parece determinar quando a luteólise irá ocorrer, sendo esse fenômeno regulado pela P4 e E2 (SILVIA *et al.*, 1991).

3.9 PRÉ-EXPOSIÇÃO COM PROGESTERONA

A P_4 exerce efeito na regulação do desenvolvimento folicular (BUFFIER e ROSER, 1974), também sendo reguladora da ovulação (MORI et al., 1977). Além disso, a P_4 tem um importante papel na maturação oocitária e embrionária. Os receptores da P_4 estão localizados em partes do tecido uterino (ARAKAWA et al., 1989), na glândula mamária (HASLAM e SHYALAMA, 1981), no eixo hipotalâmico-hipofisário (KATO e ONOUCHI, 1977) e é importante sobre a fertilidade (CERRI et al., 2011). O eixo hipotalâmico-hipofisário possui um importante papel no *feedback* regulatório dos hormônios esteróides gonadais, possuindo, também, receptores de andrógenos, estrógenos e P_4 (NOAKES, 2001).

Vacas em anestro pós-parto e novilhas pré-púberes possuem um fator chave para iniciar a ciclicidade: o aumento da liberação dos pulsos de LH pela hipófise anterior, onde o GnRH liberado pelo hipotálamo é o responsável por este mecanismo endócrino (DAY et al., 1987).

Day et al., (1998), sugeriram que a pré-exposição com P_4 ou por progestágenos reduziria a expressão hipotalâmica dos receptores de E_2 , e que, com isso, diminuiria a ação do *feedback* negativo do E_2 na secreção do GnRH.

Vasconcelos et al. (2004) observaram que a utilização de dispositivos intravaginais, contendo P_4 em protocolos de indução de ciclicidade para vacas em anestro, proporciona maior TC à primeira IA. Cooper et al. (1991) e Fike et al. (1997) demonstraram que o pré-tratamento de vacas em anestro com P_4 ou progestágenos reduz a ocorrência de ciclos curtos após a indução da ovulação.

Em bovinos, aproximadamente 40% das perdas de concepção são estimadas ocorrer entre os dias 8 e 16 da gestação (considerando o dia 0 a ovulação). Além disso, as baixas concentrações de P_4 têm também sido implicadas como um fator causativo nas baixas TC observadas em vacas leiteiras de alta produção (DISKIN e MORRIS, 2008, apud LONERGAN, 2011). Elevadas

concentrações de P₄ circulante no período pós-concepção imediato foram associadas a um aumento na produção de IFN-f (MANN e LAMMING, 1999; MANN e LAMMING, 2001, *apud* LONERGAN, 2011) e maiores TC em bovinos e ovinos (ASHWORTH *et al.*, 1989; STRONGE *et al.*, 2005; McNEILL *et al.*, 2006, *apud* LONERGAN, 2011).

Além disso, Copelin *et al.*, (1987), observaram que o CL formado após um ciclo curto (<16 dias após ovulação) tem duração normal (por volta do 17° dia pós-ovulação). Zollers *et al.*, (1993), observaram redução na quantidade de receptores de OT no endométrio de vacas pós-parto após tratamento com implante de *norgestomet*, sugerindo um efeito similar ao da P₄, já que o mesmo atua através da ligação nos receptores de P₄ (MOFFATT *et al.*, 1993).

Porém, já foi observado que, quando se utilizou a P₄ em alta concentração no início do ciclo estral de bovinos, ocorreu redução na duração do ciclo estral, ocorrendo LP, provavelmente, pelo acúmulo de AA e COX, precursores da PGF_{2α} (WOODY *et al.*, 1967; GARRET *et al.*, 1988). Por outro lado, até a segunda metade do ciclo estral, a P₄ exerce efeito supressivo à secreção de PGF_{2α} (SILVIA *et al.*, 1991) através da inibição da expressão do gene dos receptores de OT. Após aproximadamente 12 dias de exposição contínua à P₄, o seu efeito inibitório na expressão dos receptores de OT se reduz (LAFRANGE e GOFF, 1989), possivelmente, devido à redução nas concentrações de receptores de P₄ (causada pela própria P₄), e o endométrio passa a responder à OT secretando PGF_{2α} (McCRACKEN *et al.*, 1999).

Alguns autores sugeriram que o tratamento com progestágenos em vacas em anestro aumentariam a expressão de receptores de LH nas células foliculares (GARCIA-WINDER *et al.*, 1986; GARCIA-WINDER *et al.*, 1987; INSKEEP *et al.*, 1988; RHODES *et al.*, 2002), potencializando os efeitos dessa gonadotrofina e elevando a frequência de secreção de LH pela hipófise anterior, possivelmente, por minimizar a retroalimentação negativa do E₂ na secreção de GnRH (DAY e ANDERSON, 1998).

Stock e Fortune (1993) verificaram que, para que haja estímulo à secreção pulsátil de LH, é necessário que as concentrações circulantes de P_4 estejam entre 1 e 2 ng/mL. Santos e cols. (2004) utilizaram dispositivos intravaginais que fornecem nos primeiros 6 dias após inserção, concentrações circulantes de P_4 sempre acima de 2,5 ng/mL.

Sá Filho (2010) verificou que houve diminuição da expressão gênica para os receptores de OT e E_2 , expressão protéica dos receptores de E_2 , aumento do número de receptores para P_4 no estroma sub-epitelial e epitélio glandular profundo uterino, quando foi aplicado um pré-tratamento de P_4 com duração de 6 dias. Esse mesmo pesquisador também observou que durante o anestro pós-parto, essas vacas apresentaram-se com níveis elevados nas expressões gênicas dos receptores, confirmando que o tratamento diminui os riscos da ocorrência de LP na fase luteal, reduziu a capacidade de secreção da $PGF_{2\alpha}$ no início da fase luteal, e proporcionou maiores chances das vacas engravidarem.

Sá Filho (2010) evidenciou, ainda, que a suplementação de P_4 em vacas em anestro promoveu alterações proliferativas potencialmente importantes para que o endométrio tenha capacidade secretória adequada à manutenção da gestação. Os diversos e complexos mecanismos de ação da P_4 evidenciam que a mesma pode estimular ou inibir a proliferação celular no útero, dependendo do tipo celular ou contexto fisiológico (GRAHAM e CLARKE, 1997).

Os efeitos da P_4 nas funções celulares incluem estímulo à glicogênese (DEMERS *et al.*, 1977; SHAPIRO *et al.*, 1980), metabolismo cíclico de nucleotídeos (SAVOURET *et al.*, 1990), síntese e eliminação de proteínas (SAVOURET *et al.*, 1990) e regulação do ciclo celular (CLARKE e SUTHERLAND, 1990).

3.10 AÇÃO HORMONAL SOBRE O ÚTERO E ESPESSURA ENDOMETRIAL

A morfologia do útero se modifica em sincronia com o ciclo estral. Várias mudanças ocorrem no endométrio de ruminantes, sendo que estas são provocadas pelos hormônios ovarianos E_2 e P_4 . Durante a exploração retal do útero por meio da ultrassonografia percebe-se, na fase de proestro, uma maior contratilidade com aumento da turgidez de suas paredes em consequência da congestão vascular. Esta contratilidade apresenta-se sob a forma máxima na fase de estro; está reduzida na fase de metaestro e evolui para a ausência na fase de diestro (NOAKES, 2001).

NOAKES (2001) relata que um dia antes e um dia após, mas principalmente durante o estro, a camada muscular é fisiologicamente contrátil; esta característica, associada à marcada vascularização, é o que provê turgidez ao útero durante o exame retal; os cornos uterinos, por sua vez, apresentam-se eretos e em espiral. Na vaca, nos três a quatro últimos dias do diestro, ocorre regressão da mucosa, com redução na altura do epitélio luminal, e as glândulas uterinas tornam-se curtas com epitélio baixo e sem secreção.

No proestro, sob a influência de estrógeno, o endométrio é restaurado, ocorrendo no início da fase proliferativa (GRUNERT e GREGORY, 1989); a mucosa torna-se espessa, congesta e edematosa, com a predominância de células secretoras de muco. Entretanto, a proliferação glandular limita-se a um crescimento linear das glândulas, sem ramificação ou enovelamento. Durante o estro, o edema e a hiperemia endometriais são marcantes (PRIEDKALNS e LEISER, 1998), a mucosa uterina revela hipertrofia e hiperplasia de grau considerável, dando a esta fase a denominação de proliferação endometrial (GRUNERT e GREGORY, 1989).

Algumas técnicas, tais como, a citologia, a biópsia e a ultrassonografia já foram utilizadas para avaliar a fertilidade em muitas espécies, inclusive em seres humanos (BAERWALD *et al.*, 2004). A avaliação ultrassonográfica do trato reprodutivo apresenta algumas vantagens em relação às outras duas técnicas, pois constitui um método rápido de diagnóstico e não invasivo do ambiente uterino. Em humanos, diversos estudos relatam o uso da ultrassonografia como ferramenta preditiva da fertilidade, como, por exemplo, a avaliação ultrassonográfica da espessura endometrial (EE), que já é usada há mais de 20 anos para avaliar a receptividade endometrial em programas de reprodução assistida em humanos.

Wiltbank e cols. (2011) analisaram a relação da EE em vacas de leite com a concentração plasmática de E_2 e P_4 momentos antes da IA. Observaram que os animais que apresentavam $EE \geq 8$ mm tinham baixas concentrações de P_4 e altas concentrações de E_2 momentos antes da IA, sendo que estes níveis séricos demonstraram alta fertilidade do animal.

3.11 INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO

A biotécnica da IATF consiste na utilização de substâncias hormonais com o objetivo de sincronizar e induzir o estro e a ovulação para realização de IATF em tempo pré-fixado. Várias substâncias hormonais são utilizadas para induzir a puberdade em novilhas, sincronizar o estro em vacas e novilhas de corte e de leite e, desta forma, aumentar a eficiência reprodutiva destes animais (CASTILHO *et al.*, 2000; BRAGANÇA *et al.*, 2004; VOGG *et al.*, 2004). Foi relatado que o crescimento folicular pode ser induzido com o emprego de diferentes hormônios tais como a P_4 , o E_2 e a combinação destes, e também com o GnRH e seus análogos (THATCHER *et al.*, 2001).

A IATF é uma biotécnica reprodutiva que permite a concentração da IA e da parição em épocas desejáveis, dentro dos sistemas de produção (EVANS e

MAXWELL, 1987). Programas que empregam a IATF, sem a necessidade de detecção do estro, auxiliam de forma direta no emprego desta biotecnologia (BARUSELLI e SENEDA, 2004) pela maximização de tempo de trabalho, da mão de obra e dos recursos financeiros, permitindo que mais animais tornem-se prenhes com a IA.

Como vantagens da IATF, é possível destacar: elimina a necessidade de observação de estro; evita inseminações das vacas fora do momento certo, diminuindo o desperdício de sêmen, material e mão de obra; induz a ciclicidade de vacas em anestro transicional, permitindo a inseminação dessas fêmeas; diminui o intervalo entre partos, aumentando o número de bezerros nascidos; possibilita a programação das inseminações em curto período; concentra o retorno do estro das fêmeas falhadas na primeira inseminação em tempo fixo, facilitando o diagnóstico de estro no repasse; possibilita altas taxas de prenhez no início da estação de monta; concentra mão de obra, diminuindo o número de horas extras com inseminadores; diminui o descarte e custo de reposição de matrizes do rebanho e diminui o investimento na compra de touros (BARUSELLI, 2004).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS E MANEJO

Foram utilizadas 74 vacas múltíparas (2^a cria) de corte da raça Nelore no início do pós-parto (30 a 50 dias) em condição de anestro, com bezerro ao pé, e apresentando ECC \geq 2,5 (escala de 1 a 5), sendo o mesmo avaliado no início do experimento. As vacas foram avaliadas previamente por um médico veterinário, momento em que os animais com sinais de distúrbios uterinos, após palpação retal, vaginoscopia e avaliação ultrassonográfica, foram eliminados do estudo.

As vacas foram mantidas a pasto (*Brachiaria sp.*) e com suplementação de sal proteinado e mineralizado *ad libitum*, pertencendo ao rebanho comercial da Fazenda Abadia, localizada em Campos dos Goytacazes-RJ. Os animais foram manejados em duas etapas: de novembro a dezembro de 2012 e de janeiro a fevereiro de 2013, caracterizando dois blocos. Adotou-se, portanto, um delineamento em blocos casualizados com três protocolos de IATF, apresentando pré-exposição de P₄ por 3 ou 6 dias e um protocolo controle.

A condição de anestro foi determinada por dois exames ultrassonográficos consecutivos, com intervalo de 7 dias para verificar a ausência de CL e, constatado através da baixa concentração plasmática de P₄, sendo estes exames realizados antes do início do período experimental.

Após 30 dias da IA, foi realizado o diagnóstico de gestação precoce por meio de ultrassonografia para comparar entre os grupos experimentais a TC, observando a eficácia dos protocolos de IATF.

4.2 PROTOCOLOS DE PRÉ-EXPOSIÇÃO DE P₄

Para realizar a pré-exposição de P₄ neste experimento, foi inserido um dispositivo intravaginal contendo P₄ de 1° uso durante 3 e/ou 6 dias ou dois implantes intravaginais de 4° uso (previamente utilizados por 24 dias) simultaneamente, durante 6 dias (Sincrogest[®], Ouro Fino, Brasil).

4.3 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram distribuídos em quatro diferentes grupos experimentais, de forma intencional com o intuito de que todos os grupos apresentassem igual frequência quanto ao ECC e data de parição (**Figuras 1, 2, 3**), como descritos a seguir:

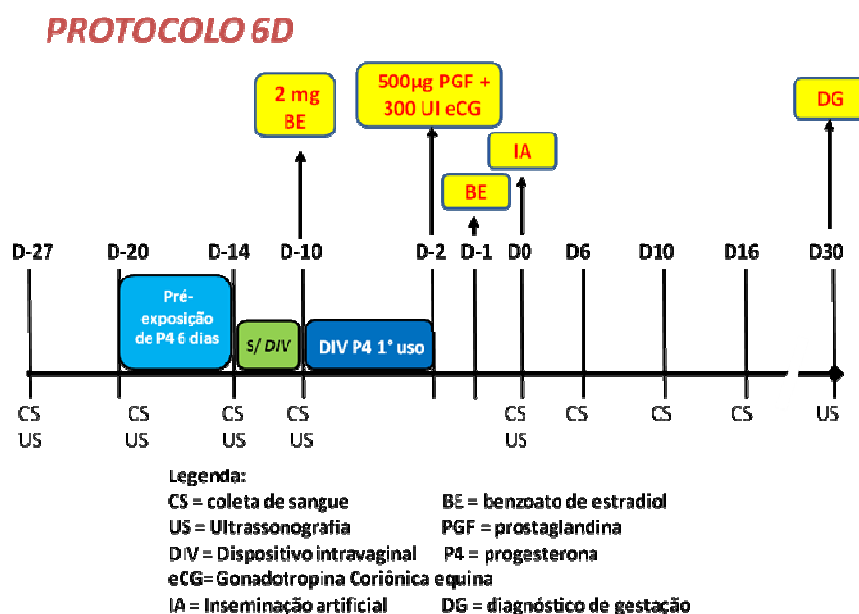


Figura 1. Procedimentos e protocolo utilizados no grupo experimental “6D”.

Grupo D6: D-27: Avaliação ultrassonográfica; **D-20:** pré-exposição de P₄ por meio da inserção de implante intravaginal, contendo 1 g de P₄ de 1º uso (Sincrogest[®], Ouro Fino, Brasil), coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-14:** retirada do implante intravaginal de P₄, coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-10:** aplicação de 2 mg de benzoato de E₂ (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (2 mL), inserção de dispositivo intravaginal de P₄ de 1º uso (Sincrogest[®], Ouro Fino, Brasil), coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-2:** retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 500 µg cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (2 mL) e aplicação de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (SincroeCG[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (1,5mL); **D-1:** aplicação de 1 mg de benzoato de E₂ (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Brasil) via i.m. (1mL); **D0:** avaliação ultrassonográfica, coleta de sangue e IA 54-58 horas após a retirada do dispositivo intravaginal; **D6:** coleta de sangue; **D10:** coleta de sangue; **D16:** coleta de sangue; **D30:** diagnóstico de gestação.

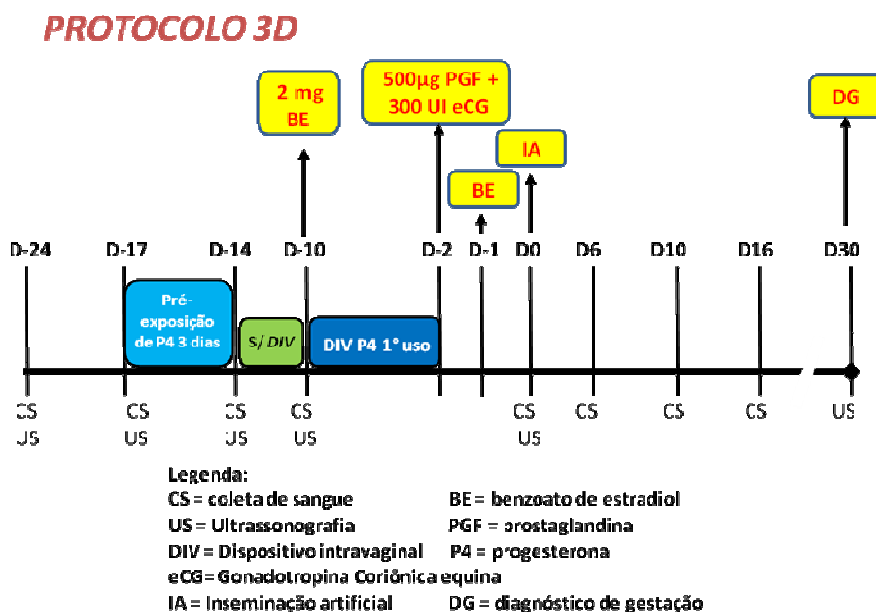


Figura 2. Procedimentos e protocolo utilizados no grupo experimental “3D”.

Grupo D3: D-24: Avaliação ultrassonográfica; **D-17:** pré-exposição de P₄ por meio da inserção de implante intravaginal, contendo 1 g de P₄ de 1° uso (Sincrogest[®], Ouro Fino, Brasil), coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-14:** retirada do implante intravaginal de P₄, coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-10:** aplicação de 2 mg de benzoato de E₂ (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (2 mL), inserção de dispositivo intravaginal de P₄ de 1° uso (Sincrogest[®], Ouro Fino, Brasil), coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-2:** retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 500 µg cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ouro Fino, Brasil) via i.m. (2 mL) e aplicação de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (SincroeCG[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (1,5mL); **D-1:** aplicação de 1 mg de benzoato de E₂ (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (1mL); **D0:** avaliação ultrassonográfica, coleta de sangue e IA 54-58 horas após a retirada do dispositivo intravaginal; **D6:** coleta de sangue; **D10:** coleta de sangue; **D16:** coleta de sangue; **D30:** diagnóstico de gestação.

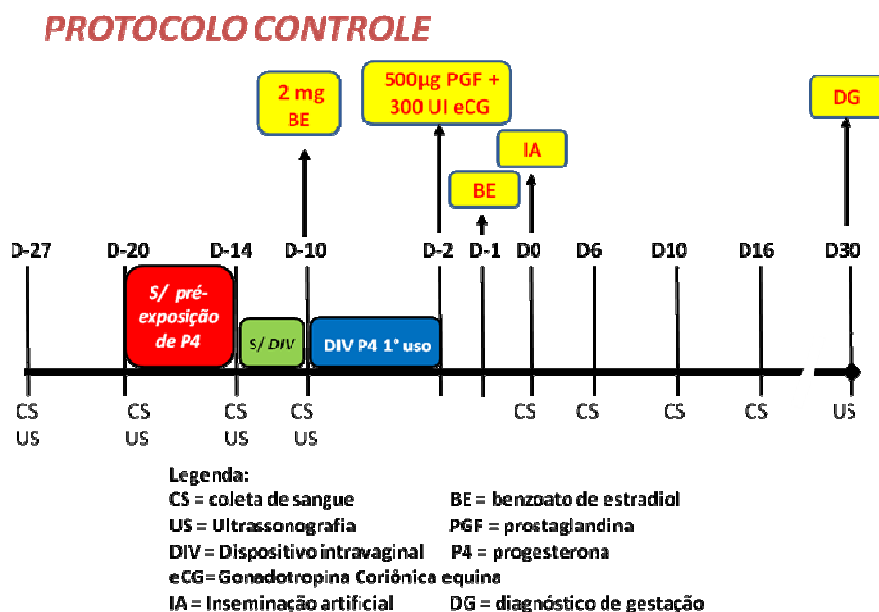


Figura 3. Procedimentos e protocolo utilizados no grupo experimental “controle”.

Grupo Controle: **D-27:** Avaliação ultrassonográfica; **D-20:** coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-14:** coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-10:** aplicação de 2 mg de benzoato de E₂ (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (2 mL), inserção de dispositivo intravaginal de P₄ de 1^o uso (Sincrogest[®], Ouro Fino, Brasil), coleta de sangue e avaliação ultrassonográfica; **D-2:** retirada do dispositivo intravaginal, aplicação de 500 µg cloprostenol sódico (Sincrocio[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (2 mL) e aplicação de 300 UI de gonadotrofina coriônica equina (SincroeCG[®], Ouro Fino, Brasil), via i.m. (1,5mL); **D-1:** aplicação de 1 mg de benzoato de E₂ (Sincrodiol[®], Ouro Fino, Brasil) via i.m. (1mL); **D0:** avaliação ultrassonográfica, coleta de sangue e IA 54-58 horas após a retirada do dispositivo intravaginal; **D6:** coleta de sangue; **D10:** coleta de sangue; **D16:** coleta de sangue; **D30:** diagnóstico de gestação.

4.4 COLETA DO SANGUE E ARMAZENAMENTO DO PLASMA

As amostras de sangue foram colhidas da veia coccígea em tubos heparinizados e armazenadas em caixa de isopor contendo gelo até a chegada ao laboratório para a centrifugação. Elas foram colhidas em todos os protocolos experimentais nos dias -14, -10, 0, 6, 10 e 16. No protocolo do grupo *6D*, *4^o uso e controle*, as amostras foram colhidas no dia -20 e no grupo *3D* no dia -17 para auxiliar no diagnóstico de condição de anestro das vacas por meio de dosagem hormonal de P₄. As amostras foram centrifugadas a 1500g x por 15 minutos. O plasma foi separado e armazenado em tubos tipo Eppendorf[®] em freezer a -20°C até a realização das dosagens hormonais de P₄.

4.5 DOSAGEM DE P₄

As amostras de sangue para dosagem de P₄, com o intuito de confirmar a condição de anestro, foram colhidas no dia -20 do protocolo nos grupos *6D*, *4^o uso* e *controle* e no dia -17 do protocolo no grupo *3D*. As vacas previamente avaliadas por ultrassonografia, que apresentaram concentração plasmática de P₄ inferiores a 0,5 ng/mL em ambos os dias, foram consideradas em anestro. Com o intuito de verificar a ocorrência de LP houve colheitas de sangue nos dias 6, 10 e 16 de todos os protocolos experimentais.

As concentrações de P₄ das amostras plasmáticas foram determinadas no Setor de Comportamento e Bem-estar Animal do Laboratório de Reprodução e Melhoramento Genético Animal (LRMGA). As concentrações de P₄ foram determinadas pela técnica de radioimunoensaio (RIE) em fase sólida, sendo utilizado o conjunto diagnóstico comercial desenvolvido para dosagem hormonal de P₄ em soro humano (Coat-A-Count®, Siemens, Los Angeles-CA, USA), o qual já foi validado para P₄ sérica na espécie bovina (DIELEMAN e BEVERS, 1987).

Nesse sentido, os procedimentos laboratoriais foram realizados de acordo com a metodologia proposta pelo fabricante.

No dia do ensaio o conjunto diagnóstico comercial foi deixado em torno de 30 minutos sob temperatura ambiente antes do início do ensaio. As amostras plasmáticas foram descongeladas em temperatura ambiente.

Para a construção da curva de calibração foram rotulados:

- 1) 4 tubos de polipropileno (não revestido com anticorpo) de 12 x 75 mm para as contagens totais (T) e ligações não específicas (NSB) em duplicadas;
- 2) 16 tubos revestidos com anticorpos de P₄ sendo: dois tubos para P₀ (ligação máxima com o anticorpo para a P₄, na ausência do padrão ou desconhecido) e dois tubos para cada calibrador (padrão) em ordem crescente correspondendo de Padrão 1 (P₁ - 0,0125 ng/ mL) a Padrão 9 (P₉ - 40 ng/mL);

3) 6 tubos foram utilizados como controle do ensaio utilizando um calibrador de baixa concentração (2 ng/mL), alta concentração (20 ng/mL) e um *pool* das amostras;

4) 180 tubos revestidos com anticorpos de P₄ para as amostras plasmáticas.

Após a rotulagem dos tubos, como descrito acima, foi pipetado 100 µl do calibrador A nos tubos NSB e P₀; 100 µl dos calibradores remanescentes (padrões de P1 a P9); 100 µl dos controles, 100 µl do *pool* das amostras e 100 µl das amostras.

Em todos os tubos foi adicionado 1 ml de P₄ ¹²⁵I no espaço de 10 minutos após a pipetar os calibradores (padrões), controles e amostras. Os tubos foram agitados em vortex e incubados por 3 horas a temperatura ambiente. Após este período, todo o líquido contido nos tubos foi aspirado por uma bomba a vácuo, exceto os tubos T (contagens totais). A leitura foi realizada através do contador gama Wizard 2470.

Foram realizados três ensaios. O controle de qualidade do RIE foi realizado através do coeficiente de variação intraensaio de cada procedimento, que foram 0,0085%, 0,79% e 1,84 %, e o coeficiente de variação interensaio que foi 1%. A sensibilidade mínima detectada para cada ensaio foi de 0,01 ng/ml, 0,07 ng/ml e 0,15 ng/ml. As concentrações séricas de P₄ foram expressas em ng/ml

Foi considerada a ocorrência de LP nos animais que apresentarem concentração plasmática de P₄ decrescente entre os dias 6, 10 e 16 dos protocolos experimentais.

4.6 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

Todas as mensurações ultrassonográficas foram realizadas por um mesmo técnico durante o experimento. Os exames ginecológicos foram realizados com aparelho ultrassonográfico (DP-2200, Myndray[®], China) com transdutor linear retal

de 7,5 MHz. A avaliação da condição de anestro foi realizada através de dois exames ultrassonográficos nos dias -27 e 20 do protocolo no grupo *6D*, e *Controle* e nos dias -24 e -17 do protocolo no grupo *3D*, sendo considerados em anestro os animais que não apresentaram tecido luteal em ambos os exames, juntamente, com a dosagem hormonal de P₄.

No D0 de todos os protocolos experimentais foi realizada a IA juntamente com a avaliação da EE e do tônus uterino das vacas para se determinar a fertilidade das mesmas no momento da IA e posterior comparação entre os grupos.

Em relação à classificação do tônus uterino, foram usados os seguintes critérios: (1) útero com tônus muito baixo e distendido; (2) útero com baixo tônus, mas moderadamente contraído; (3) útero com bom tônus e moderadamente contraído e; (4) útero com alto tônus e bastante contraído (WILBANK et al., 2011).

A avaliação da EE das vacas foi realizada utilizando o aparelho de ultrassonografia com um paquímetro eletrônico aplicado a 90° à imagem transversal congelada, adquirida a cerca de 2 cm da bifurcação interna do corpo uterino. Mínima pressão foi aplicada com a sonda ultrassonográfica sobre o útero para evitar deformações dos cornos uterinos durante a mensuração da EE. Esta, por sua vez, foi definida como sendo a distância entre a borda da luz endometrial até a interface visualizada entre o endométrio e o miométrio. A EE foi determinada para cada um dos cornos uterinos em imagens separadas, congeladas e a média foi calculada para estabelecer a medida final da EE para cada animal (WILTBANKS et al., 2011).

No D30 foi realizado o diagnóstico de gestação precoce das vacas de todos os protocolos experimentais com o intuito de verificar a TC.

4.7 RETORNO À CICLICIDADE OVARIANA

Para se confirmar o retorno à ciclicidade ovariana nas vacas que foram submetidas à IATF, foram consideradas as dosagens hormonais de P_4 dos dias D6, D10 e D16, momento em que os animais que apresentavam decréscimo na concentração plasmática de P_4 , ao decorrer destes dias, pôde ser considerado um animal que sofreu LP. No dia D30 foi realizada a avaliação ginecológica para observar a presença ou não do CL para auxiliar se o animal retornou ou não à ciclicidade ovariana.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Utilizou-se delineamento em blocos ao acaso, com quatro protocolos de IATF. Os dados obtidos para as variáveis EE e concentrações plasmáticas de P_4 foram submetidos aos testes de Lilliefors, Cochran e Bartlett para normalidade e homogeneidade das variâncias, com impedimentos plausíveis para análise da variância – Anova.

Dessa forma, optou-se pela análise descritiva por meio de média e desvio padrão, exceto para EE que foi analisada pelo Teste t de *Student* ($P \leq 0,05$). As variáveis em estudo foram investigadas por meio das correlações de Pearson, separadamente para vacas prenhas e vazias (Tabelas 3 e 4). O teste de Qui-Quadrado foi utilizado para as seguintes comparações: 1) TC e taxa de retorno à ciclicidade observadas nos protocolos de IATF, considerando-se como frequência esperada a equidade entre protocolos ($P \leq 0,05$); 2) TC por tônus uterino, considerando-se como frequência esperada a equidade entre as classificações do tônus uterino ($P \leq 0,01$); 3) frequência absoluta de vacas prenhas por tônus uterino

em cada protocolo de IATF, considerando-se como frequências esperadas as obtidas no protocolo controle ($P \leq 0,05$). 4) Taxa de LP por protocolo de IATF, considerando-se como frequência esperada a equidade entre protocolos ($P \leq 0,01$). Nesse sentido, utilizou-se para as análises o programa computacional SAEG 9.1 (UFV, 2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As TC das vacas não podem ser consideradas iguais entre os protocolos de IATF, testados (χ^2 , $P < 0,05$) conforme ilustrado na **Tabela 1**. Observou-se maior TC para os protocolos 3D (40,00%) ao passo que o protocolo 6D apresentou 25% de vacas prenhas e o protocolo controle 32%.

Tabela 1. Taxa de concepção observada entre os protocolos de IATF com e sem pré-exposição de progesterona intravaginal em vacas de corte da raça Nelore com bezerro ao pé, no início do pós-parto.

Protocolos	n	Gestantes	Não Gestantes
6D	24	25,00% (06/24)	75,00% (18/24)
3D	25	40,00% (10/25)	60,00% (15/25)
Controle	25	32,00% (08/25)	68,00% (17/25)
Teste Qui-Quadrado:	N=74	$\chi^2 = 11.62^*$; GL=2;	P<0,05

Legenda: 6D- por seis dias com um implante novo; 3D- por três dias com um implante novo; controle- sem pré-exposição à progesterona. * = As TC entre os protocolos de IATF não podem ser considerados iguais pelo teste Qui-quadrado a 5% de probabilidade de erro.

Os resultados de TC não corroboram com o encontrado no estudo de Nash *et al.*, (2012), onde os pesquisadores trabalharam com vacas da raça Angus no início de pós-parto (média de 47 dias) com presença de bezerro ao pé e em anestro. Nesse trabalho foi realizada a comparação das taxas de estro e de prenhez entre dois tratamentos de sincronização de estro, um com pré-exposição de P₄ por 14 dias, que após 16 dias se aplicou um agente luteolítico sintético e 48 horas após se realizou a IA (*Show-Me-Synch*) e o outro tratamento sendo o *CO-Synch* + CIDR[®] (P4+GnRH, PGF, GnRH). Os autores não observaram diferença estatística (P=0,20) nas TC entre os dois grupos, 54% no grupo *Show-me-Synch* e 56% no grupo *CO-Synch* + CIDR[®].

Considerando que a TC satisfatória na IATF em vacas zebuínas em anestro é em torno de 50%, as TC dos protocolos deste experimento se encontraram abaixo do ideal. Isso pode ser explicado, em parte, devido ao fato de que durante os meses de execução do experimento, houve baixa precipitação pluviométrica e concentrada em plena época de chuva na região, tendo o acumulado 294 mm (Informação pessoal), sendo que a média da cidade de Campos dos Goytacazes, nos últimos 30 anos, foi de 456, 4 mm (UFRRJ, 2013). Este aspecto leva a crer que ocorreu um prejuízo para a qualidade e quantidade de forragem disponível para o gado e, conseqüentemente, ocasionando menor valor nutricional do alimento (DANTAS *et al.*, 2008). A nutrição interfere diretamente na reprodução (CROWE, 2008); assim sendo, as vacas do experimento poderiam apresentar uma TC maior do que a observada, caso a precipitação pluviométrica estivesse normalizada na região.

Além disso, todos os animais do experimento necessitaram de serem manejados mais vezes do que o normal, já que durante o experimento houve alguns dias de coleta de sangue das vacas, o que aumentou o número de vezes que os animais necessitavam de vir para o curral de manejo (durante os 57 dias, desde a avaliação e seleção dos animais para o experimento, até o D30, onde foi realizado o diagnóstico de gestação; os animais foram 10 vezes para o curral de manejo ao invés de 3 ou 4 vezes conforme protocolos comerciais). Este excesso de manejo pode ter, também, interferido nas TC dos protocolos experimentais.

Isso pode ser explicado, já que a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e o consequente aumento do cortisol plasmático são a primeira resposta de um animal mediante as condições estressantes. O cortisol aumenta em cerca de 20 minutos diante da exposição do animal a um estresse agudo, e alcança um platô dentro de duas horas. O estímulo estressante de forma contínua leva a efeitos deletérios ao crescimento, engorda, sanidade e reprodução (SILANIKOVE, 2000).

As doenças reprodutivas infecciosas, como por exemplo, brucelose, campilobateriose genital bovina, diarreia viral bovina (BVD), rinotraqueite infecciosa bovina (IBR), leptospirose, entre outras, podem ser responsáveis por abortos, repetições de estro e infertilidade temporária ou permanente (LEITE, 2000). Estes problemas afetam diretamente os índices reprodutivos dos rebanhos, tais como a taxa de prenhez e o intervalo entre partos, e que também podem afetar programas de IATF, reduzindo a TC no início da estação de monta.

Nogueira *et al.*, (2004), avaliaram a taxa de prenhez após transferência de embrião em novilhas e respectiva concentração plasmática, e concluíram que a TC após a IA foi menor nos animais com o aumento da concentração de P_4 no início do ciclo estral (até o 5º dia), do que nos animais do grupo controle. Durante os primeiros cinco dias do ciclo estral bovino, a concentração de P_4 permaneceu < 2 ng/mL. No entanto, a concentração de $P_4 > 2$ ng/mL durante este intervalo induziu um aumento de $PGF_{2\alpha}$, liberada pelo endométrio. Talvez a exposição a estes níveis de P_4 , no início do ciclo estral, induza a síntese $PGF_{2\alpha}$ por secreção do endométrio, e possa ter favorecido a perda embrionária induzida no presente estudo. Além disso, tem sido demonstrado que a liberação de $PGF_{2\alpha}$ é precedida pela regulação baixa dos receptores da P_4 do endométrio (MORGAN *et al.*, 1993). Por conseguinte, um aumento na concentração de P_4 , no início do ciclo estral, pode acelerar a regulação baixa dos receptores de P_4 , induzindo a LP (MANN *et al.*, 1998). Esta é uma hipótese utilizada para explicar a ocorrência de ciclos estrais curtos em bovinos.

Na **Tabela 2** é apresentada a taxa de retorno à ciclicidade ovariana das vacas em anestro do experimento após 30 dias da IATF, em que foi observado

que nos protocolos 6D e 3D 66,67% das vacas não gestantes, com retorno à ciclicidade ovariana, enquanto que nos protocolo controle se observou 82,35%, sendo verificado diferença estatística entre os tratamentos e controle (χ^2 , $P < 0,05$).

Tabela 2. Taxa de retorno à ciclicidade ovariana observada após 30 dias entre os protocolos de pré-exposição de IATF em vacas de corte em anestro da raça Nelore com bezerro ao pé, no início do pós-parto.

Protocolos	n	Cíclicos	Acíclicos
6D	18	66,67% (12/18)	33,33% (6/18)
3D	15	66,67% (10/15)	33,33% (5/15)
Controle	17	82,35% (14/17)	17,65% (3/17)
Teste Qui-Quadrado:	N=50	$\chi^2 = 27,94^*$; GL= 2;	$P < 0,05$

Legenda: 6D- por seis dias com um implante novo; 3D- por três dias com um implante novo; controle- sem pré-exposição. * = A taxa de retorno à ciclicidade ovariana não é considerada igual entre os protocolos de IATF pelo teste Qui-quadrado a 5% de probabilidade de erro.

Observa-se que os protocolos utilizados foram eficientes em retornar à ciclicidade ovariana em vacas. Este aspecto pode sugerir que exposição prévia de P_4 a determinadas concentrações pré e pós IA interferem neste mecanismo fisiológico.

Utilizando tratamentos com P_4 em vacas em anestro pós-parto, aumenta-se a expressão de receptores de LH nas células foliculares (RHODES *et al.*, 2002), de forma a potencializar os efeitos dessa gonadotrofina, elevando a frequência de secreção de LH pela hipófise anterior, possivelmente, por minimizar a retroalimentação negativa do E_2 na secreção de GnRH (DAY e ANDERSON, 1998). Estas informações poderiam explicar o fato de que as vacas deste experimento apresentaram satisfatórias taxas de retorno à ciclicidade ao final de 30 dias da utilização dos protocolos de IATF.

Quando se utilizou tratamentos de pré-exposição de P₄ em protocolos de IATF, em vacas de corte em anestro, por meio da aplicação de um implante intravaginal de 1° uso (maior quantidade de progesterona), foi observada uma menor taxa de retorno à ciclicidade em relação ao protocolo controle. Isso pode ser explicado porque durante o período de crescimento folicular, altas concentrações de P₄ ocasionadas pela pré-exposição a este hormônio podem exercer efeito inibitório à liberação de gonadotrofinas (ADAMS *et al.*, 1992; BÓ *et al.*, 2003; KASTELIC *et al.*, 2008).

Em relação à questão econômica, o protocolo 3D em vacas em anestro apresentou ser o mais econômico na relação custo-benefício, já que o mesmo foi o que apresentou a maior TC em vacas (40,00%) e com satisfatória taxa de retorno à ciclicidade ovariana em vacas (66,67%). Caso se verificasse a taxa de prenhez aos 60 ou 90 dias após o início da estação de monta neste experimento, provavelmente o protocolo 3D garantiria maiores taxas em comparação aos demais protocolos experimentais, observando no final da estação de monta em vantagem sobre os demais protocolos.

Quanto à classificação do tônus uterino e sua TC obtida pelos animais do experimento, foi observado que não houve distribuição igual de prenhez (χ^2 , $P < 0,01$). Os tônus 3 e 4 (túrgido) obteve a maior TC de 52,94% e 44,12%, respectivamente, enquanto que o tônus 1 e 2 obteram 2,96% e 0%, respectivamente, conforme observado na **Figura 5**.

No protocolo 3D foi observada uma diferença das frequências encontradas quanto às classificações de tônus uterino em relação ao grupo controle (χ^2 , $P < 0,05$), em que houve um maior número de animais que apresentaram tônus 4. Na **Figura 6** apresenta esta distribuição de tônus uterino entres os grupos experimentais e o controle.

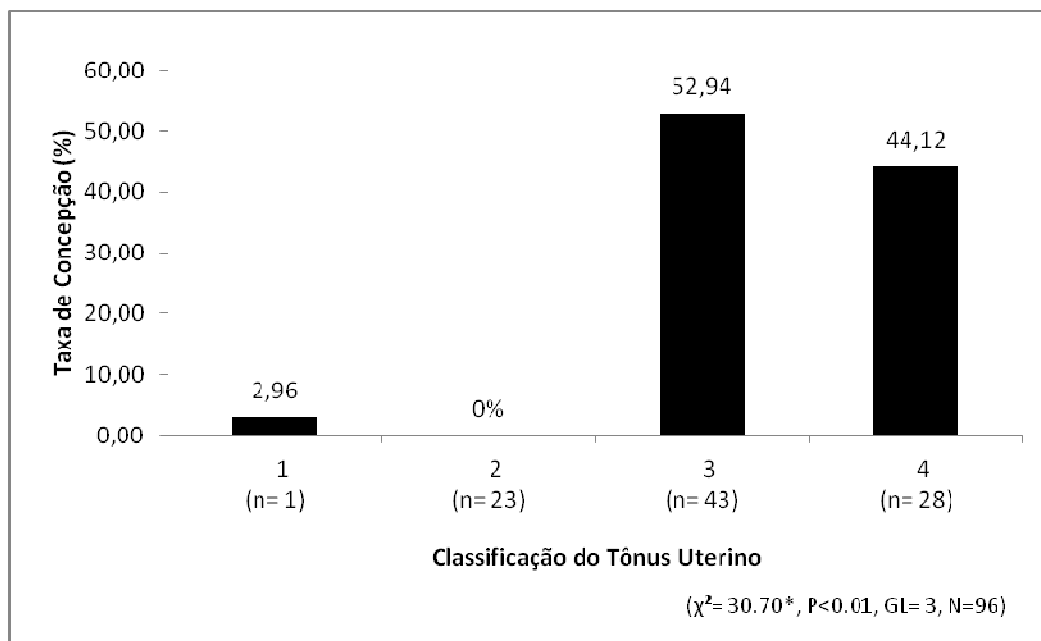


Figura 5. Classificação do tônus uterino e da TC obtida pelas vacas do experimento, sem distinguir o protocolo utilizado. * = significativo, segundo o Teste do Qui-quadrado ao nível de 1% de probabilidade de erro.

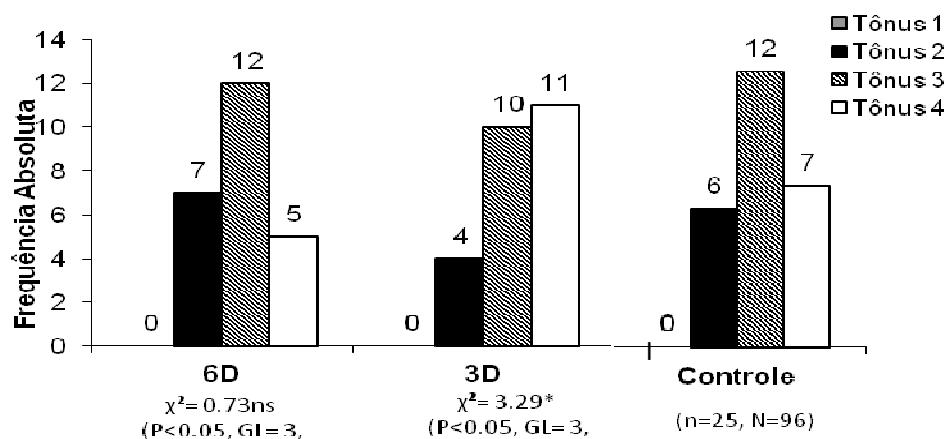


Figura 6. Distribuição absoluta dos diferentes graus de tônus uterinos das vacas prenhas nos diferentes protocolos experimentais. * = significativo, segundo o Teste do Qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade de erro.

As melhores TC no tônus 3 e 4 podem ser explicadas pela presença de contratilidade uterina, podendo estar relacionada a uma resposta fisiológica às modificações que o útero sofre, ao responderem à ação do hormônio E_2 , na fase de proestro e estro, em decorrência do estímulo do FSH e LH da hipófise anterior, que permite um ambiente uterino favorável aos espermatozóides atingirem o local de fecundação (HAFEZ 1995; CUNNIGHAN 2004). Nesta perspectiva, Hahn (1969) encontrou TC 35% superiores em vacas e novilhas, que apresentavam tônus uterino forte no estro.

Observando que o protocolo 3D se destacou aos demais protocolos de IATF em relação à frequência de vezes que os animais foram classificados com tônus 4, pode-se sugerir que esta resposta ao E_2 foi mais evidente, aparentemente. Também poderia justificar a TC apresentada pelo protocolo 3D, que foram as maiores apresentadas neste experimento, em que se observou que 44,12% das vacas que apresentou tônus 4 ficaram prenhas após a IATF.

Johnson *et al.*, (1998), estudaram a influência de hormônios esteróides em ovelhas e observaram que o peso do útero era maior, próximo ao estro, se comparado à fase lútea média, e que este aumento de peso seria devido à hipertrofia de tecido endometrial induzida por estrógenos e não tanto por hiperplasia. Isto corresponde aos dados obtidos em outras espécies, que demonstram regulação hormonal da morfologia e função uterinas (NAYAK *et al.*, 2002).

Esse conjunto de alterações no comportamento e na fisiologia do animal ocorre devido ao efeito positivo do E_2 no comportamento do estro e no aumento do tônus do sistema genital feminino (PERRY e PERRY, 2008).

De acordo com Couto (2007), a presença da contratilidade uterina nos protocolos de sincronização é um sinal clínico que indica uma resposta de crescimento e diferenciação folicular e ovulação à estimulação hormonal.

Com relação à P_4 , na **Figura 7** são ilustradas as concentrações de P_4 e os dias de coleta de sangue correspondentes das vacas utilizadas no experimento nos diferentes grupos, separando-as em duas categorias: vacas prenhas e vacas vazias. Nesta tabela, o protocolo 3D está inserido no D-20 para melhor entendimento e comparação sobre os demais protocolos estudados, sabendo-se que neste protocolo a coleta ocorreu no D-17 (início da pré-exposição de P_4).

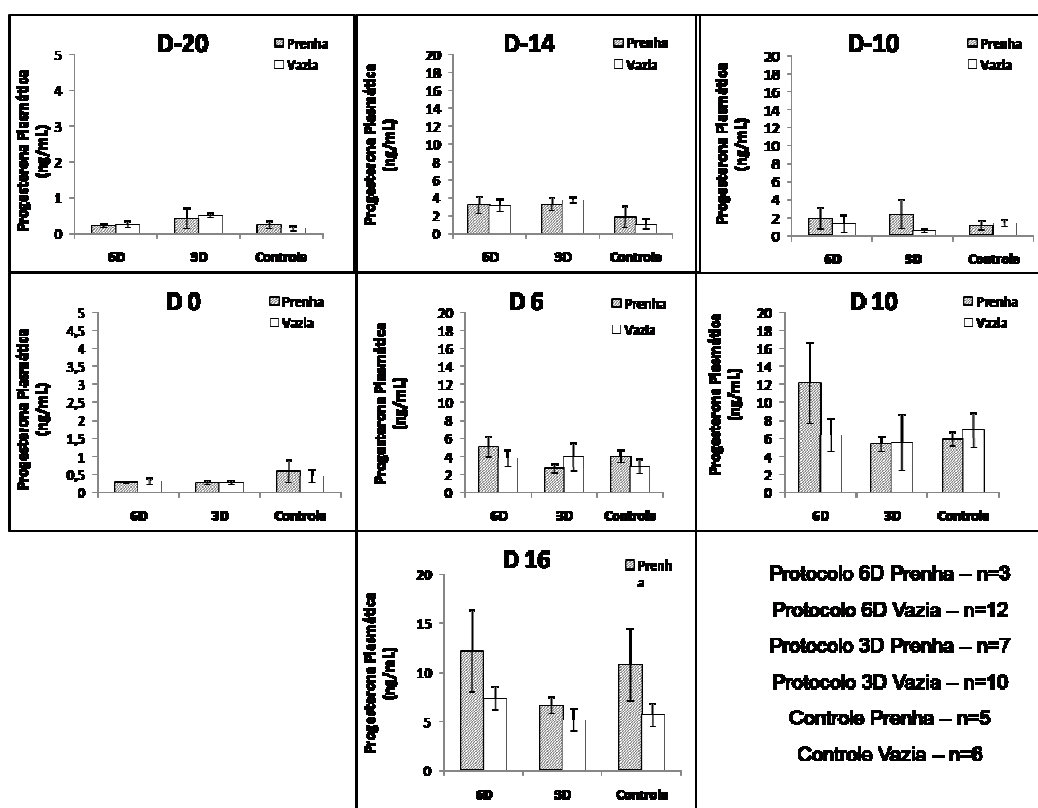


Figura 7. Concentração plasmática de P_4 observada das vacas prenhas e vazias nos protocolos de IATF experimentais nos diferentes dias de coleta de plasma (Média±Desvio-padrão; $N_{\text{Prenhas}}= 21$; $N_{\text{vazias}}= 34$).

As concentrações de P_4 observadas foram diferentes, estatisticamente, (média ± desvio-padrão) em relação às vacas prenhas e vazias de cada protocolo no dia D-10 no protocolo 3D e no dia D16 no protocolo controle. No dia D-10 do

experimento, as vacas prenhas do protocolo 3D foram observadas com maior concentração plasmática de P_4 em relação às vacas vazias do mesmo protocolo. Da mesma forma, no dia D16 no protocolo controle as vacas prenhas apresentaram maior concentração plasmática de P_4 do que as vacas vazias. Não foram observadas diferenças estatísticas entre as vacas prenhas e vazias de cada protocolo nos demais dias de mensuração hormonal de P_4 .

Em relação às concentrações de P_4 das vacas, nos diferentes protocolos, foi observada uma diferença estatística no dia D6 nos protocolos 6D e controle em relação ao 3D, e também no dia D10 no protocolo 6D em relação aos protocolos 3D e controle. No dia D-16 não foi observada diferença estatística entre os protocolos.

Era esperado que no dia D-14 houvesse diferença estatística entre os protocolos experimentais, principalmente, entre os protocolos com pré-exposição de P_4 , já que neste dia ocorreu mensuração de P_4 de todos os grupos do experimento, inclusive do grupo controle. Porém, se observou que, neste dia de coleta no protocolo controle, a concentração plasmática de P_4 não se diferenciou dos demais protocolos. Algumas das vacas do protocolo controle provavelmente estavam iniciando o retorno da ciclicidade antes mesmo do protocolo de IATF (início do protocolo de IATF no D-10). Isso justificaria as variações de P_4 neste dia de coleta, porém não foi verificada presença de CL durante a avaliação ultrassonográfica. Também não se pode descartar a hipótese de erro na mensuração da P_4 .

É observado que o protocolo 6D induziu uma maior produção de P_4 nas vacas prenhas, onde, no dia D6 observou-se concentração plasmática média de 6 ng/mL e que no dia D16 apresentou concentrações próximas a 12 mg/mL, chegando até 20 ng/mL. Também foi observado que animais do protocolo 3D, que apresentaram concentrações abaixo de 3 ng/mL no dia D6, e no dia D16 abaixo de 6 ng/mL, foram eficientes em manter a gestação em fase precoce.

Como não foi observada diferença estatística no presente trabalho em quase todos os dias de coleta para mensuração de P_4 , pode-se sugerir que a P_4 não é o ponto chave na melhora das TC na IATF em vacas de corte, sendo a mesma

participante como coadjuvante no processo de sincronização do ciclo estral em bovinos.

Alguns autores sugerem que o folículo dominante de vacas pré-tratadas com progestágenos possa ter maior estímulo para desenvolvimento e maturação devido ao maior estímulo à expressão de receptores de LH e à maior secreção de LH pela hipófise anterior, sendo que, no presente estudo, possivelmente, não tenha sido observado este efeito do pré-tratamento com P₄ (GARCIA-WINDER *et al.*, 1986; GARCIA-WINDER *et al.*, 1987; INSKEEP *et al.*, 1988; RHODES *et al.*, 2002).

Em vacas que estavam em anestro e retornaram à ciclicidade ovariana, há a necessidade de elevação na secreção de LH, que provavelmente é consequente da redução na concentração de receptores de E₂ no hipotálamo, minimizando a retroalimentação negativa do E₂ na secreção de GnRH em vacas em anestro, como demonstraram Day e Anderson (1998).

Em relação à porcentagem de LP, dentre os protocolos experimentais neste experimento, houve distribuição igual para todos os grupos (χ^2 , P<0,01). Na **Figura 8** são observadas as seguintes taxas de LP: 21,43%, 28,57% e 28,57% para os grupos 6D, 3D e Controle, respectivamente.

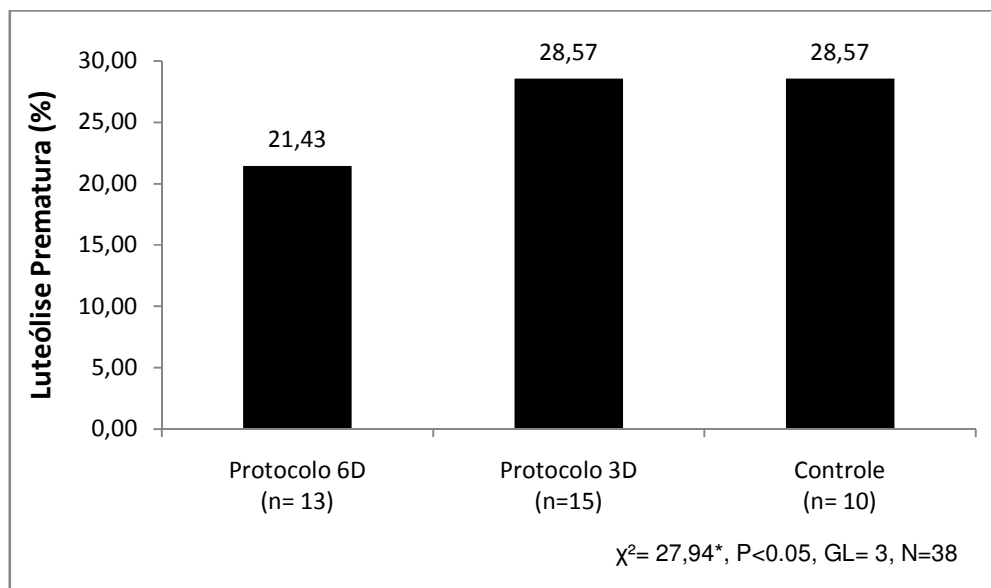


Figura 8. Taxa de LP observada nos diferentes protocolos experimentais. ^{ns}
 = não significativo, segundo o Teste do Qui-quadrado ao nível de 1% de probabilidade de erro.

Os protocolos de IATF com pré-exposição de P₄ não foram eficientes na prevenção da LP como se esperava, indicando que, possivelmente, não seja a P₄ a precursora do mecanismo chave para evitar a LP.

No experimento de Dias *et al.*, (2012), que trabalharam com protocolos de IATF com longa e curta exposição de P₄ em vacas de corte lactantes no início de pós-parto, foi verificado que, para evitar o efeito de ciclos curtos e, conseqüentemente, a LP nos bovinos, a concentração de P₄ no plasma tem que ser $\geq 1,5$ ng/mL no momento da remoção do implante intravaginal de P₄ no protocolo de IATF.

Porém, os resultados deste experimento não corroboram os resultados de Dias *et al.* (2012), já que no momento da retirada do implante de P₄ de pré-exposição às concentrações foram bem maiores do que 1,5 ng/mL, e, ainda assim, não foram eficazes em minimizar a incidência de LP.

A concentração de P_4 ideal para melhorar a taxa de prenhez em bovinos não está bem estabelecida. Não apenas as concentrações subluteais de P_4 (1 a 2 ng/mL; STOCK e FORTUNE, 1993) podem causar luteólise, mas concentrações maiores durante a fase lútea precoce também podem desencadear a liberação prematura de $PGF_{2\alpha}$ e, podendo ocasionar LP (NOGUEIRA, *et al.*, 2004, *apud* PRETHEEBAN *et al.*, 2010). O presente estudo não corrobora com estes resultados, mesmo que no protocolo 6D não tenha apresentado concentrações maiores de P_4 no D6 e D10 (fase lútea precoce) em relação aos demais protocolos. Porém, não se observou diferença estatística com os protocolos 3D e controle na taxa de LP.

O presente experimento também não corrobora os resultados de Sá Filho (2007), o qual observou, tanto o tratamento com três dias de pré-exposição à P_4 , como também com 6 dias, reduziram a incidência da LP em vacas Nelore em anestro pós-parto (40 a 60 dias) submetidas à IATF, sugerindo que, um componente tempo-dependente realmente existe. Assim, o grupo que foi submetido à pré-exposição com P_4 por três dias obteve uma taxa de ovulação de 33,33% (18/54), enquanto que o grupo com pré-exposição de 6 dias, a taxa de ovulação correspondeu a 65,45% (36/55). Todavia, a taxa de LP dos animais deste experimento foi igual para os dois grupos de 5,55%, mostrando que, com pré-exposição de P_4 por três dias, já é suficiente para diminuir as taxas de LP nas vacas em anestro submetidas à IATF, e enquanto que, no presente estudo as taxas de LP de todos os protocolos, foram acima de 20%, não sendo eficientes em reduzir esta taxa de LP.

Em outro estudo, Bridges *et al.*, (2004), avaliaram quais características seriam responsáveis pelas alterações hormonais que influenciam a fertilidade, onde as vacas foram induzidas a apresentar proestro curto ou longo. No grupo em que o proestro foi curto, de acordo com o estudo, tendeu-se a apresentar maior porcentagem de animais que manifestaram ciclo curto e apresentou menor concentração de E_2 durante o proestro em relação aos animais que tiveram proestro longo. Ao avaliarem a TC de acordo com o E_2 pré-ovulatório, independente do tratamento, os autores encontraram TC de 88,9% para animais

com $E_2 > 10$ pg/mL e 14,3% para animais com $E_2 < 10$ pg/mL. É possível que no presente experimento ocorresse uma indução de proestro curto e que favorer, o que pode ter favorecido uma maior taxa de LP entre os protocolos estudados. Caso fosse induzido um proestro longo, poderia ter aumentado as TC e diminuído as TP.

Em relação à EE apresentada dentre os protocolos experimentais neste estudo, não houve diferença estatística entre os grupos ($P < 0,01$). Na **Figura 9** são observadas as seguintes médias e desvio-padrão das mensurações de EE: $8,11 \pm 0,770$, $8,18 \pm 0,725$ e $8,61 \pm 0,890$ para os grupos 6D, 3D e Controle, respectivamente. Enquanto que, na **Figura 10**, são observadas as médias e desvio-padrão das mensurações de EE das vacas prenhas e vazias, independente do protocolo utilizado, onde as vacas prenhas apresentaram EE de $8,2 \pm 1,43$, enquanto que as vacas vazias $8,17 \pm 1,64$ de EE.

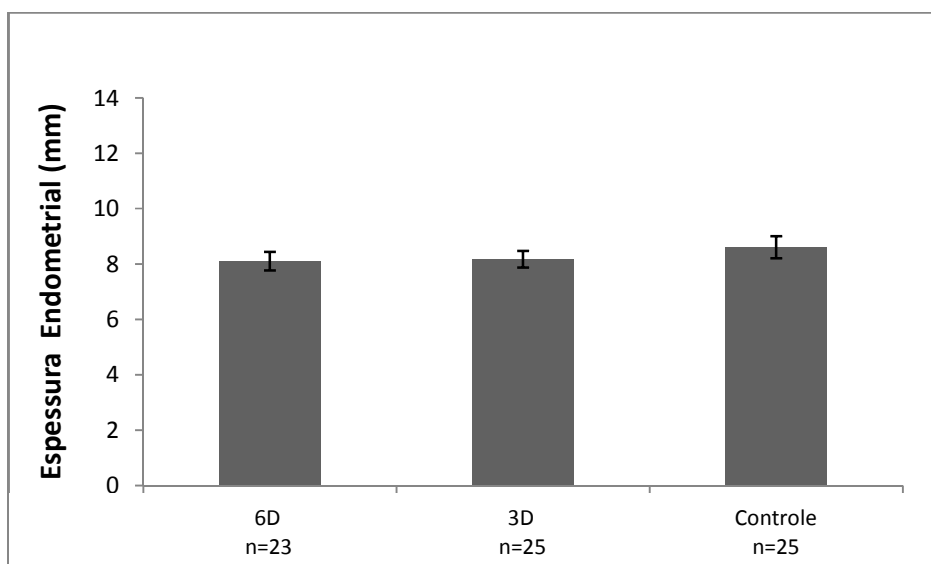


Figura 9. Espessura endometrial mensurada de cada protocolo experimental (Média \pm desvio-padrão).

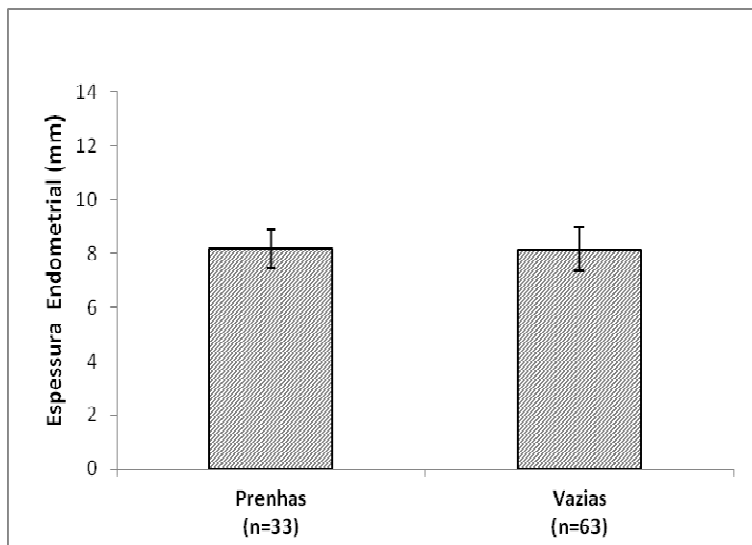


Figura 10. EE no momento da IA das vacas prenhas e vazias do experimento, independente do protocolo utilizado (Média \pm desvio-padrão).

No presente estudo, não foi verificada uma relação da fertilidade da vaca com EE, circunstância que não corrobora os resultados de Wiltbank *et al.*, (2011), em seu experimento. Eles analisaram a EE no momento da IA em vacas leiteiras em lactação submetidas a protocolo de IATF Ovsynch em sistema *free-stall*, com média de 105 dias de lactação. Verificaram correlação da EE com diâmetro do folículo ovulatório e E_2 circulante, além de relação do aumento da EE com a porcentagem de vacas prenhas após a IATF (35-41 dias) e menor taxa de vacas anovulatórias. Os animais que tinham $EE > 8$ mm obtiveram 46,8% de TC e com $EE \leq 8$ mm obtiveram 30,1% ($P < 0,01$). Em relação à taxa de vacas anovulatórias, as mesmas apresentaram 30,3% e 48,4%, com $EE > 8$ mm e com $EE \leq 8$ mm, respectivamente ($P < 0,01$).

Estudos em humanos descrevem a ultrassonografia como uma técnica não específica o suficiente para a avaliação do endométrio e não tem precisão para prever a fertilidade futura (GLISSANT *et al.* 1985; YUVAL *et al.* 1999). Estudos

futuros devem ser conduzidos para avaliar a variação entre técnicos, fazendas e tipos de equipamentos e sondas de ultrassom usadas nas avaliações.

Os quadros de correlações são apresentados nas **Figuras 11 e 12**. Considerando um valor de correlação significativo ($r \geq 0,70$), observou-se correlação nas dosagens de P4 entre os dias D6, D10 e D16 nas vacas prenhas e vazias

	TON	ECC	EE	D-20	D-14	D-10	D0	D6	D10	D16
TON	***	0,24	0,61	0,28	0,24	-0,07	-0,06	-0,07	0,06	0,19
ECC	***	***	0,14	-0,16	0,3	-0,11	-0,42	0,32	0,1	0,42
EE	***	***	***	0,38	-0,09	0,02	0,25	0,35	0,14	0,34
D-20	***	***	***	***	0,27	0,17	0,01	0,04	-0,02	0,04
D-14	***	***	***	***	***	0,24	-0,3	-0,12	-0,08	0,17
D-10	***	***	***	***	***	***	0,05	-0,1	-0,13	-0,18
D0	***	***	***	***	***	***	***	-0,08	-0,11	-0,23
D6	***	***	***	***	***	***	***	***	0,73 [*]	0,8 [*]
D10	***	***	***	***	***	***	***	***	***	0,65

Figura 11. Valores de correlação encontrados entre os dados apresentados do experimento nas vacas prenhas. * = significativo, $P \leq 0,01$.

	TON	ECC	EE	D-20	D-14	D-10	D0	D6	D10	D16
TON	***	0,37	0,46	-0,05	-0,16	-0,03	-0,29	0,16	-0,02	-0,22
ECC	***	***	0,01	0,06	-0,13	-0,03	-0,09	-0,01	-0,25	-0,15
EE	***	***	***	-0,04	-0,33	-0,11	-0,01	0,12	0,08	0,08
D-20	***	***	***	***	0,34	0,14	-0,19	0,15	-0,04	-0,04
D-14	***	***	***	***	***	0,27	-0,15	-0,05	-0,13	-0,27
D-10	***	***	***	***	***	***	-0,14	-0,16	-0,17	-0,19
D0	***	***	***	***	***	***	***	-0,23	-0,2	-0,01
D6	***	***	***	***	***	***	***	***	0,8 [*]	0,71 [*]
D10	***	***	***	***	***	***	***	***	***	0,74 [*]

Figura 12. Valores de correlação encontrados entre os dados apresentados do experimento nas vacas vazias. * = significativo, $P \leq 0,01$.

A seguir, são ilustrados nas **Figuras 13 e 14** os dados de correlação distribuídos dentre os parâmetros avaliados neste experimento das vacas prenhas entre os dias D6 e D10 ($r=0,73$, $P<0,01$) e entre os dias D6 e D16 ($r=0,80$, $P<0,01$) e suas respectivas distribuições. Enquanto que nas **Figuras 15, 16 e 17** são ilustrados os dados de correlação distribuídos deste experimento das vacas vazias, entre os dias D6 e D10 ($r=0,80$, $P<0,01$), D10 e D16 ($r=0,74$, $P<0,01$) e D6 e D16 ($r=0,71$, $P<0,01$).

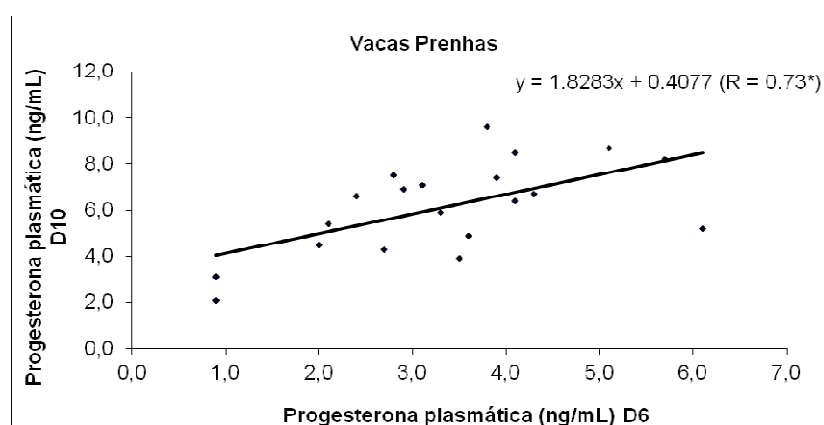


Figura 13. Correlação da concentração plasmática de P4 entre os dias D6 e D10 das vacas prenhas, independente do protocolo utilizado ($r=0,73^*$). * = significativo, $P<0,01$.

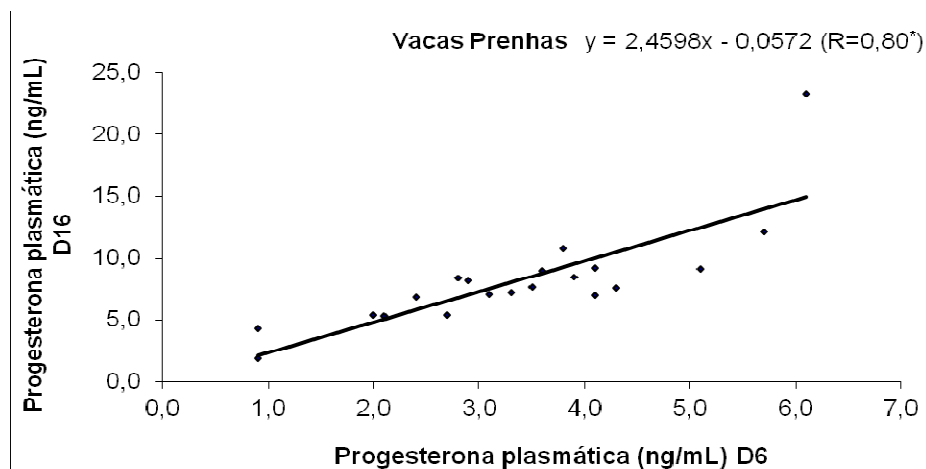


Figura 14. Correlação da concentração plasmática de P4 entre os dias D6 e D16 das vacas prenhas, independente do protocolo utilizado ($r=0,80^*$). * = significativo, $P<0,01$.

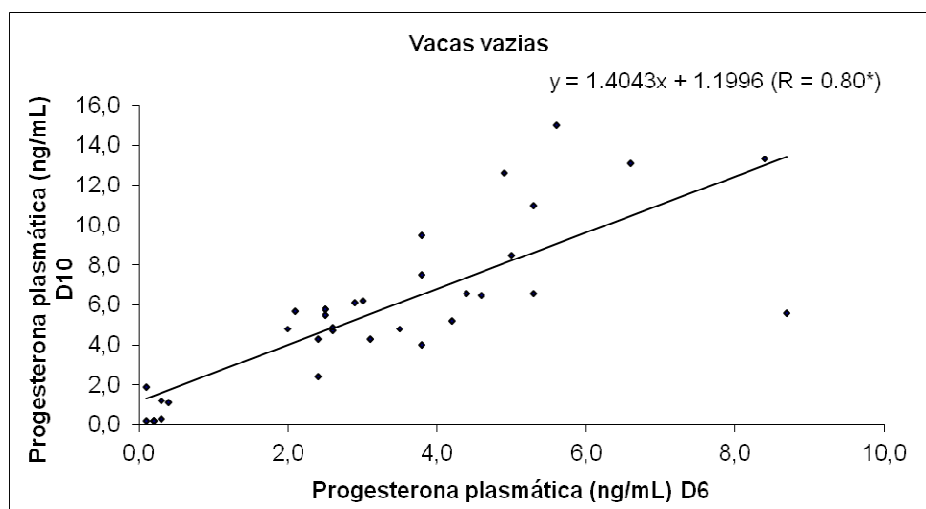


Figura 15. Correlação da concentração plasmática de P4 entre os dias D6 e D10 das vacas vazias, independente do protocolo utilizado ($r=0,80^*$). * = significativo, $P<0,01$.

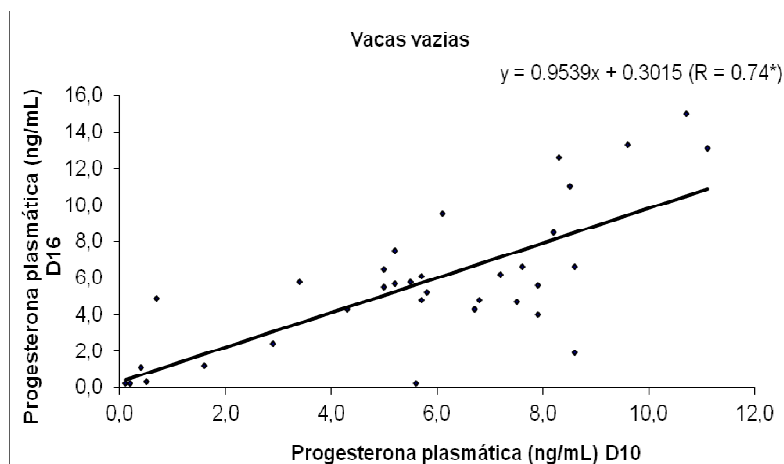


Figura 16. Correlação positiva da concentração plasmática de P4 entre os dias D10 e D16 das vacas vazias, independente do protocolo utilizado ($r=0,74^*$). * = significativo, $P<0,01$.

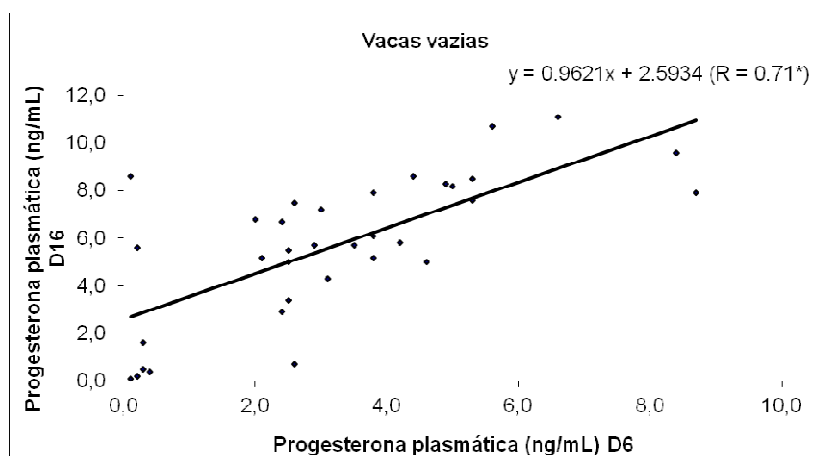


Figura 17. Correlação positiva da concentração plasmática de P4 entre os dias D6 e D16 das vacas vazias, independente do protocolo utilizado ($r=0,71^*$). * = significativo, $P<0,01$.

Demétrio *et al.* (2007) observaram, ainda, que houve correlação positiva entre concentração de P₄ no dia 7 e probabilidade de concepção em vacas inseminadas após um ciclo estral sincronizado. Porém, este aspecto não foi observado neste

experimento, já que no dia D6 e D10 pós IA não houve diferença estatística entre as vacas prenhas e vazias nos diferentes protocolos de IATF utilizadas neste experimento. Isso indica que existem outros hormônios e mecanismos envolvidos neste processo de prevenção de LP e concepção.

6 CONCLUSÕES

Houve efeito da pré-exposição de P_4 na resposta à TC neste experimento em vacas de corte em anestro no início de pós-parto com presença de bezerro, observando que o protocolo 3D obteve a maior TC.

No que tange ao tônus uterino, foi observado um importante parâmetro para se avaliar a fertilidade das vacas, onde os tons 3 e 4 se destacaram por obter maiores índices de concepção. É possível que a duração do proestro seja determinante na concepção. Em relação à distribuição de tons uterino das vacas prenhas entre os protocolos experimentais, no protocolo 3D, foi possível observar um maior número de animais prenhas com tons 4.

Sobre as dosagens de P_4 entre as vacas prenhas e vazias dos diferentes protocolos não se observou alterações pertinentes em suas concentrações, sugerindo que este hormônio não seja o único determinante para obter concepção nas vacas de corte e também para minimizar os índices de LP, já que os protocolos de IATF com pré-exposição de P_4 e o protocolo controle deste experimento não tiveram diferenças.

Quanto à EE, neste experimento não se observou relação com a fertilidade das vacas Nelore no início do pós-parto, bem como diferenças da mesma entre os diferentes protocolos utilizados, o que leva a crer haver necessidade de mais estudos, que possam verificar prováveis diferenças entre as variações entre técnicos, fazendas e tipos de equipamentos e sondas de ultrassom usadas nas avaliações de EE.

Houve correlações das dosagens de P_4 dos dias D6, D10 e D16, tanto das vacas prenhas, como das vacas vazias do experimento, sendo o mesmo interessante para prever a dosagem da P_4 no decorrer dos dias pós-IA.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, G. P.; MATTERI, R.L.; GINTHER, O.J. Effect of progesterone on growth of ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating FSH in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 95, p. 627-640, 1992.

AHUJA, C.; MONTIEL, F.; CANSECO, R.; SILVA, E.; MAPES, G. Pregnancy rate following GnRH + PGF2 α treatment of low body condition, anestrous *Bos taurus* x *Bos indicus* crossbred cows during the summer months in a tropical environment. **Animal Reproduction Science**, v.63, p. 202–213, 2005.

ALONSO, N.; BÓ, G. A. Fisiología del puerperio. In: BO, G. A.; ARMONIA, A.; CACCIA, M.; CARCEDO, G.; CUTAIA, L.; MORENO, D. **Especialidad em Reproducción Bovina – Fisiología de la reproducción de la vaca**. 1.ed, Cordoba: IRAC, 2008. p.126-153.

ARAKAWA, S.; LYO, M.; OHKAWA, R.; KAMBEGAWA, A.; OKINAGA, S.; ARAI, K. Steroid hormone receptors in the uterus and ovary of immature rats treated with gonadotropins. **Endocrinology Japonese**. v.36, p.219-228, 1989.

ARMSTRONG, D. T.; HANSEL, W. Alteration of the bovine estrous cycle with oxytocin. **Journal Dairy Science**, v.42, p.533-542, 1959.

ASSELIN, E.; GOFF, A.K.; BERGERON, H.; FORTIER, M.A. Influence of sex steroids on the production of Prostaglandin F2 α and E2 and response to oxytocin in cultured epithelial and stromal cells of the bovine endometrium. **Biology Reproduction**, v.54, p.371-379, 1996.

ASSELIN, E.; DROLET, P.; FORTIER, M. A. *In vitro* response to oxytocin and interferon-tau in bovine endometrial cells from caruncular and inter-caruncular areas. **Biology Reproduction**, v.59, p.241-247, 1998.

ASHWORTH, C.J.; SALES, D.I.; WILMUT, I. Evidence of an association between the survival of embryos and the periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. **Journal Reproduction Fertility**, v.87, p.23-32, 1989.

BELLOWS, R.A., R.E. SHORT, G.V. RICHARDSON. Effects of sire, age of dam and gestation feed level on dystocia and postpartum reproduction. **Journal of Animal Science**, v.55, p.1827, 1982.

BERGSTRON, S.; DANIELSSON, H.; KLENBERG, D.; SAMUELSSON, R. The enzymatic conversion of essential fatty acids into prostaglandins. **Journal Biology Chemichal**, v.239, p.4006-4009, 1964.

BINELLI, M. et al. Estratégias para inibir a luteólise e aumentar a fertilidade em bovinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 16., 2005. **Anais...** Goiânia: CBRA, 2005.

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.

BÓ, G. A.; CUTAIA, L.; REIS, L. El uso de tratamientos hormonales para mejorar El desempeño reproductivo en ganado de carne en anestro en climas tropicales. In: SIMPOSIO INTERNACIONAL DE REPRODUCCION BOVINA, 1., 2004, Barquisimeto. **Anais...** Barquisimeto, 2004. p.125-137.

BÓ, G. Endocrinologia Del ciclo estral, foliculogenesis y desarrollo folicular del bovino adulto. In: BO, G. A.; ARMONIA, A.; CACCIA, M.; CARCEDO, G.; CUTAIA, L.; MORENO, D. **Especialidad en Reproducción Bovina – Fisiología de La reproducción de la vaca**. 1.ed, Cordoba: IRAC, 2008. p. 23-53.

BRAGANÇA, J. F. M.; GONÇALVES, P. B. D.; BASTOS, G. M.; NEVES J. P.; OLIVEIRA, J. F. C.; SIQUEIRA L. C.; BORGES L. F. K.; POMBO R. D. Sincronização de estro e ovulação em novilhas de 12 a 14 meses de idade e inseminadas artificialmente com observação de estro e horário pré-fixado. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.28, n.2, p.73-77, 2004.

BRIDGES, A.; MUSSARD, M.L.; GASSER, C. L.; GRUM, D. E.; DAY, M. L. Influence of duration of proestrous on circulating estradiol, the LH surge and luteal function in cattle.

Journal Animal Science, v. 82, suppl. 1, p. 102 (abstract), 2004.

BUFFIER, G.; ROSER, S. New data concerning the role played by progesterone in the control of follicular growth in the rat. **Acta Endocrinology (Copenh.)**, v.75, p.569-578, 1974.

BURKE, C. R.; MIHM, M.; MACMILLAN, K. L.; ROCHE, J. F. Some effects of prematurely elevated concentrations of progesterone on luteal and follicular characteristics during the oestrous cycle in heifers. **Animal Reproduction Science**, v.35, p.27-39, 1994.

BURNS, P. D.; GRAF, G. A.; HAYES, S. H.; SILVIA, W. J. Cellular mechanisms by which oxytocin stimulates uterine PGF₂ α synthesis in bovine endometrium: roles of phospholipases C and A2. **Domestical Animal Endocrinology**, v.14, p.181-191, 1997.

BURNS, P.D.; GRAF, G.A.; HAYES, S.H.; SILVIA, W.J. Effect of oxytocin on expression of cytosolic phospholipase A2 mRNA and protein in ovine endometrial tissue *in vivo*. **Domestical Animal Endocrinology**, v.19, p.237-246, 2000.

BUTLER, W. R. Efeito do balanço energético negativo na fertilidade de vacas leiteiras. In: X CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 2006, Uberlândia. **Anais...Uberlândia**, 2006

BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v.60-61, p.449-457, 2000.

CASTILHO, C.; GAMBINI, A. L. C.; FERNANDES, P.; TRINCA, L. A.; TEIXEIRA, A. B.; BARROS, C. M. Synchronization of ovulation in crossbred dairy heifers using gonadotrophin-releasing hormone agonist, prostaglandin F₂ α and human chorionic gonadotrophin or estradiol benzoate. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. v. 33, p.91 - 101, 2000.

CASTILHO, C.; GARCIA, J.M.; RENESTO, A.; NOGUEIRA, G.P.; BRITO, L.F.C. Follicular dynamics and plasma FSH and progesterone concentrations during

follicular deviation in the first post-ovulatory wave in Nelore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Science**, v.98, p.189-96, 2006.

CERRI, R.L.A.; CHEBEL, R.C.; RIVERA, F.; NARCISO, C.D.; OLIVEIRA, R.A.; AMSTALDEN, M.; BAEZ-SANDOVAL, G.M.; OLIVEIRA, L.J.; THATCHER, W.W.; SANTOS, J.E.P. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine responses. **Journal of Dairy Science**. v.94, p.3352-3365, 2011.

CLARKE, C. L.; SUTHERLAND, R. L. Progestin regulation of cellular proliferation. **Endocrinology Rev.**, v.11, p.266-301, 1990.

COHN, S. M.; SCHOLOEMANN, S.; TESSNER, T.; SEIBRIT, K.; STENSON, W. F. Crypt stem cell survival in the mouse intestinal epithelium is regulated by prostaglandins synthesized through cyclooxygenase-1. **J. Clin. Inv.**, v.99, p.1367-1379, 1997.

COOPER, D. A.; CARVER, D. A.; VILLENEUVU, P.; SILVIA, W. J.; INSKEEP, E. K. Effects of progestogen treatment on concentrations of prostaglandins and oxytocin in plasma from the posterior vena cava of post-partum beef cows. **Journal Reproduction Fertility**, v.91, p.411-421, 1991.

COPELIN, J.P.; SMITH, M.F.; GARVERICK, H.A.; YOUNGQUIST, R.S. Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrous beef cows. **Journal Animal Science**, v.64, p.1506-1511, 1987.

COUTO, G.B. **Reutilização de dispositivo intra-vaginal de progesterona na Inseminação Artificial Em Tempo Fixo (IATF) em búfalas criadas no estado do Pará**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro Agropecuário, Universidade Federal do Pará - UFPA. Belém. 74p. 2007.

CROWE, M. A. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows. **Reproduction Domestic Animals**, v.43, supl. 5, p. 20-8, 2008.

CUNNINGHAM, J. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 3. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2004. v. 1, 397p.

DIAS, F. C. F.; MAPLETOFT, R. J.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P.; COLAZO, M. G.; STOVER, B. C.; DOCHI, O.; SINGH, J. **Theriogenology**. v.77, p.437–444, 2012.

DANTAS, A. F.; PEREIRA FILHO, J. M.; SILVA, A. M. A. et al. Características da carcaça de ovinos Santa Inês terminados em pastejo e submetidos a diferentes níveis de suplementação. **Ciência Agrotecnica**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1280-1286, jul./ago., 2008.

DAY, M. L.; IMAKAWA, K.; CLUTTER, A.C.; WOLFE, P.L.; ZALESKY, D.D.; K. NIELSEN, K.; KINDER, J.E. 1987. Suckling behavior of calves with dams varying in milk production. **Journal Animal Science**, v.1, p.1165-1207, 1987.

DAY, M. L.; ANDERSON, L. H. Current concepts on the control of puberty in cattle. **Journal Animal Science**, v.76, p.1-15, 1998.

DE CASTRO, T. Anestro posparto em la vaca de cria. In: UNGERFELD, R. **Reproducción em los animales domésticos**. 1. ed, Montevideo: Melibea, 2002. v.1, p. 207 218.

DEMERS, L. M.; FEIL, P. D.; BARDIN, C. W. Factors that influence steroid induction of endometrial glycogenesis in organ culture. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.286, p.249-259, 1977.

DEMETRIO, D. G.; SANTOS, R. M.; DEMETRIO, C. G.; VASCONCELOS, J. L. Factors affecting conception rates following artificial insemination or embryo transfer in lactating holstein cows. **Journal Dairy Science**, v.90, p.5073-5082, 2007.

DISKIN, M.G.; MORRIS, D.G. Embryonic and early foetal losses in cattle and other ruminants. **Reproduction Domestic Animals**, v.43 Suppl. 2, p.260 –267, 2008.

EVANS, G.; MAXWELL, W. M. C. **Salamon's artificial insemination of sheep and goats**. 1. ed. Sydney: Butterworths, 1987, p.194.

FARNWORTH, P.G. Gonadotrophin secretion revisited. How many ways can FSH leave a gonadotroph? **Journal Endocrinology**. v.145, p.387–395, 1995.

FORDE, N.; BELTMAN, M.E.; LONERGAN, P.; DISKIN, M.; ROCHE, J.F.; CROWE, M.A. Oestrous cycles in *Bos taurus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v.124, p.163–169, 2011.

FRANCO, G. L.; ALVES, J. M.; OLIVEIRA FILHO, B. M.; GAMBARINI, M. L. Interação entre nutrição e reprodução em vacas de corte. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 10, n. 32, p. 23-32, 2004.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P. E.; DEEVER, D. R.; SMITH, V. G.; LEWIS, G. S.; INSKEEP, E. K. Endocrine profiles associated with lifespan of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **Journal Animal Science**, v.62, p.1353-1362, 1986.

GARCIA-WINDER, M.; LEWIS, P. E.; TOWNSEND, E. C.; INSKEEP, E. K. Effects of norgestomet on follicular development in post-partum beef cows. **Journal Animal Science**, v.64 (Suppl.1), p.1099 (Abstract), 1987.

GARRET, J.E.; GEISERT, R.D.; ZAVY, M.T.; GRIES, L.K.; WETTEMANN, R.P.; BUCHANAN, D.S. Effect of exogenous progesterone on prostaglandin F2 alpha release and the interestrus interval in the bovine. **Prostaglandins**, v.36, p.95-96, 1988.

GAZAL, O.S. et al. Gonadotropin-releasing hormone secretion into third-ventricle cerebrospinal fluid of cattle: correspondence with tonic and surge release of luteinizing hormone and its inhibition by suckling and neuropeptide Y. **Biology of Reproduction**, v.59, p.676-683, 1998.

GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; BARROS C.M.; BARUSELLI, P.S. Estudo ultra-sonográfico da divergência folicular em novilhas Nelore (*Bos indicus*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, supl.1, p.210, 2005 [Resumo].

GLISSANT, A.; DEMOUZON, J. FRYDMAN, R. Ultrasound study of the endometrium during in vitro fertilization cycles. **Fertility and Sterility**, v. 44, p. 786-790, 1985)

GRAHAM, J. D.; CLARKE, C. L. Physiological action of progesterone in target tissues. **Endocrinology Rev.**, v.18, p.502-519, 1997.

GREGORY, R. M.; ROCHA, D. C. Protocolos de Sincronizacao e inducao de Estros em Vacas de Corte no Rio Grande do Sul. In: Simposio Internacional de Reproducao Animal Aplicada, 1., 2004, Londrina. **Anais:...** Sao Paulo : FMZU - USP, 2004.v. 1.p.147-154.

GRUNERT, E.; GREGORY, R.M. **Diagnóstico e Terapêutica da Infertilidade na Vaca**. 2 ed. Porto Alegre: Sulina, 1989. 163p.

GÜMEN, A.; WILTBANK, M.C. Length of progesterone exposure needed to resolve large follicle anovular condition in dairy cows. **Theriogenology**, v.63, p.202-218, 2005.

HAFEZ, E. S. E.; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**. 6ª Ed. Barueri, São Paulo, Ed. Manole, 1995. 59-113p.

HAFEZ, E. S. E; HAFEZ, B. **Reprodução Animal**, 7ª ed. Barueri, São Paulo, Ed. Manole, 2004.

HAHN, J. Inheritance of fertility in cattle inseminated artificially. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 52, p. 240-244, 1969.

HASLAM, S.Z.; SHYALAMA, G. Relative distribution of estrogen and progesterone receptors among the epithelial, adipose, and connective tissue components of the normal mammary gland. **Endocrinology**, v.108, p.825-830, 1981

HENRICKS, D. M.; LONG, J. T.; HILL, J. R. The various effects of prostaglandin F2 α during various stages of estrous cycle of beef heifers. **Journal Reproduction Fertility**, v.41, p.113-120, 1974.

HORTA, A. E. M. Fisiologia do puerperio na vaca. In: Jornadas Internacionales de Reproduccion Animal, **Anais: ...** AERA, Santander, 1995. p.73-84.

IBGE.

<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2012/default.shtm>.

Acesso em 20 de junho de 2013

INSKEEP, E. K.; BRADEN, T. D.; LEWIS, P. E.; GARCIA-WINDER, M.; NISWENDER, G. D. Receptors for luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in largest follicles of post-partum beef cows. **Biology of Reproduction**, v.38, p.587-591, 1988.

JOHNSON, M.L.; REDMER, D. A.; REYNOLDS, L. P.; Effects of ovarian steroids on uterine growth, morphology, and cell proliferation in ovariectomized steroid-treated ewes. **Biology of Reproduction**, v.57, p.588-596, 1997.

KATO, J.; ONOUCHI, T. Specific progesterone receptors in the hypothalamus and anterior hypophysis of the rat. **Endocrinology**, v.101, p.903-928, 1977.

KESLER, D. J.; WESTON, P. G.; PIMENTEL, C. A.; TROXEL, T. R.; VICENT, D. L.; HIXON, J. E. Diminution of the in vitro response to luteinizing hormone by corpora lutea induced by gonadotropin releasing hormone treatment of post-partum suckled beef cows. **Journal Animal Science**, v.53, p.749-754, 1981.

KIM, J. J.; FORTIER, M. A. Cell type specificity and protein kinase C dependency on the stimulation of prostaglandin E2 and prostaglandin F2 α production by oxytocin and platelet-activating factor in bovine endometrial cells. **Journal Reproduction Fertility**, v.103, p.239-247, 1995.

LAFRANGE, M.; GOFF, A.K. Effects of progesterone and oestradiol-17 β on oxytocin-induced release of prostaglandin F2 α . **Journal Reproduction Fertility**, v.82, p.429-436, 1989.

LAMB, G. C.; LYNCH, J. M.; GRIEDER, D. M.; MINTON, J. E.; STEVENSON, J. S. Ad libitum suckling by an unrelated calf in the presence or absence of a cows own calf prolongs postpartum ovulation. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 75, p. 2762-2769, 1997.

LEITE, R. C. Manejo sanitário dos bovinos. I Simpósio de Manejo Sanitário e Reprodutivo de Bovinos, 2000. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora-MG. **Anais...**Porto Alegre, 2005, 83p.

LOBATO, J. F. P.; VAZ, R. Z. O estado da arte no manejo do cado de cria. In: CICLO DE PALESTRA EM REPRODUCAO DE BOVINOS, 10., 2005, Porto Alegre. **Anais: ...** Porto Alegre 2005, p.117-152.

LONERGAN, P. Influence of progesterone on oocyte quality and embryo development in cows. **Theriogenology**, v.76, p.1594-1601, 2011.

MADEJ, A.; LANG, A.; BRANDT, Y.; KINDAHL, H.; MADSEN, M. T.; EINARSSON, S. Factors regulating ovarian function in pigs. **Domestic Animals Endocrinology**, v.29, p.347-361, 2005.

MADUREIRA, E. H.; FERNANDES, R. H. R.; ROSSA, L. A. F.; PIMENTEL, J. R. V.; BRAGA, F. A.; PARDO, F. J. D. Anestro pós-parto em bovinos: a suplementação com óleos vegetais pode ser útil para encurtá-lo? . **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA**, 2^o, 2006, São Paulo: FMZU - USP, 2006, p. 63-70.

McCRACKEN, J. A.; CUSTER, E. E.; LAMSA, J. C. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiology Rev.**, v.79, p.263-323, 1999.

McNEILL, R. E.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; MORRIS, D. G. Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. **Theriogenology**, v.65, p.1435-1441, 2006.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E.; PAYNE, J. H. Role of early luteal phase progesterone in control of the timing of the luteolytic signal in cows. **Journal Reproduction Fertility**, v.113, p.47-51, 1998.

MANN, G. E.; PAYNE, J. H.; LAMMING, G. E. Hormonal regulation of oxytocin-induced prostaglandin F2 α secretion by the bovine and ovine uterus *in vivo*. **Domestic Animal Endocrinology**, v.21, p.127-141, 2001.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. **Reproduction Domestic Animals**, v.34, p.269-274, 1999.

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

MANN, J. G.; HUMPHREY, W. D.; FLOOD, P. F.; MAPLETOFT, R. J.; RAWLINGS, N.; CHENG, K. W. Endocrine profiles and functional characteristics of corpora lutea following onset of postpartum ovarian activity in beef cows. **Can. J. Anim. Sci.**, v.63, p.331-347, 1983.

MOENTER, S.M.; BRAND, R.C.; KARSCH, F.J. Dynamics of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion during the GnRH surge: insights into the mechanism of GnRH surge induction. **Journal Endocrinology**, v.130, p.2978–2984, 1992.

MOFFATT, R. J.; ZOLLERS, W. G.; WELSHONS, W. V.; KIEBORZ, M. A. Basis of norgestomet action as a progestogen in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.10, p.21-30, 1993.

MORGAN, G. L.; GEISERT, R. D.; McCANN, J. P.; BAZER, F. W.; OTT, T. L.; MIRANDO, M. A. Failure of luteolysis and extension of the interoestrous interval in sheep treated with progesterone antagonist mifepristone RU486. **Journal Reproduction Fertility**, v.98, p.451–457.

MORI, T.; SUZUKI, A.; NISHIMURA, T. KAMBEGAWA, A. Inhibition of ovulation in immature rats by antiprogestosterone antiserum. **Journal Endocrinology**, v.73, p.185-186, 1977.

MURPHY, M. G.; BOLAND, M. P.; ROCHE, J. F. Pattern of follicular growth and resumption of ovarian activity in post-partum beef suckled cows. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 90, p. 523-533, 1990.

NASH, J. M.; MALLORY, D. A.; ELLERSIECK, M.R.; POOCK, S.E.; SMITH, M. F.; PATTERSON, D. J. **Animal Reproduction Science**, v. 132, p.11-16, 2012.

NAYAK, N. R.; BRENNER, R. M. Vascular proliferation and vascular endothelial growth factor expression in the rhesus macaque endometrium. **Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v.87, p.1845-1855, 2002.

NOAKES, D.E. **Endogenous and Exogenous Control of Ovarian Cyclicity**. In: NOAKES, D.E.; PARKINSON, T.J.; ENGLAND, C.G.W. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 8 Ed. London: Saunders, 2001. Cap. 1, p. 2-53.

NOGUEIRA, M. F. G.; MELO, D. S.; CARVALHO, L. M.; FUCK, E. J.; TRINCA, L. A.; BARROS, C. R. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2a and eCG? **Theriogenology**, v. 61, p.1283-1290, 2004.

NORMAN, S.J.; POYSER, N.L. Effects of inhibitors of arachidonic acid turnover on the production of prostaglandins by the guinea-pig uterus. **Journal Reproduction Fertility**, v.118, p.181-186, 2000.

ODDE, K. G.; WARD, H. S.; KIRACOFÉ, G. H.; MCKEE, R. M.; KITTOK, R. J. Short estrous cycles and associated serum progesterone levels in beef cows. **Theriogenology**, v. 14, p. 105-112, 1980.

PERRY, G. A.; PERRY, B. L. Effect of preovulatory concentrations of estradiol and initiation of standing estrus on uterine pH in beef cows. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 34, n. 3, p. 333-338, 2008.

PESSOA, G. M. Manejo reprodutivo em fêmeas de corte. In: SEMINÁRIO DE ZOOTECNIA. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1999. 13 p.

PFEIFER, L. F.; MAPLETOFT, R.; ADAMS, G; KASTELIC, J.; SMALL, J.; DIAS, F.; SINGH, J. The effect of progesterone on follicular development and pregnancy rate in beef cattle. **Reproduction, Fertility and development**, v.20, p. 90-90.

PRETHEEBAN, T.; BALENDRAN, A.; GORDON, M. B.; RAJAMAHENDRAN, R. mRNA of luteal genes associated with progesterone synthesis, maintenance, and apoptosis in dairy heifers and lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**, v.121, p.218-224, 2010.

PULGISI, T.A.; RAMPACEK, G. B.; KRAELING, R. P.; KISER, T. E. Corpus luteum susceptibility to prostaglandin F2 α (PGF2 α) luteolysis in hysterectomised prepubertal and mature gilts. **Prostaglandins**, v.18, p.257, 1979.

RAMIREZ-GODINEZ, J. A.; KIRACOFÉ, G. H.; MCKEE, R. M.; SCHALLES, R. R.; KITTOCK, R. J. Reducing the incidence of short estrous cycles in beef cows with norgestomet. **Theriogenology**, v.15, p.613-623, 1981.

REECE, W. O. **DUKES/Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 12^a ed. 2006.

RHODES, F.M., BURKE, C.R., CLARK, B.A., DAY, M.L., MACMILLAN, K.L. Effect of treatment with progesterone and oestradiol benzoate on ovarian follicular turnover in post-partum anoestrous cows and cows which have resumed oestrous cycles. **Animal Reproduction Science**, v.69, p.139-150, 2002.

ROBERTS, J. S.; McCracken, J. A.; GAVAGAN, J. E.; SOLOFF, M. S. Oxytocin-stimulated release of prostaglandin F_{2α} from ovine endometrium *in vitro*: correlation with estrous cycle and oxytocin-receptor binding. **Endocrinology**, v.99, p.1107-1114, 1976.

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

SÁ FILHO, O.G. **Efeito de tratamentos com progesterona e/ou estradiol na incidência de regressão prematura do corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto**. Botucatu, SP, 2007, 137p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

SÁ FILHO, O.G.; VASCONCELOS, J.L.M. Regressão prematura do corpo lúteo em bovinos. **Revista Veterinária e Zootecnia**. v.15, p.220-233, 2008.

SÁ FILHO, O.G.; THATCHER, W. W.; VASCONCELOS, J. L. M. Effect of progesterone and/or estradiol treatments prior to induction of ovulation on subsequent luteal lifespan in anestrous Nelore cows. **Animal Reproduction Science**. v.112, p.95-106, 2009.

SÁ FILHO, O.G. **Efeito do tratamento com progesterona e do diâmetro folicular nas características histológicas e moleculares uterinas em vacas**

Nelore em anestro pós-parto. Botucatu, SP, 2010, 183p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.

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 Dairy Science**, v.85, p.2831–2842, 2002.

SANTOS, J. E. P.; SÁ FILHO, M. F. Nutrição e reprodução em bovinos. In: **SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA**, 2^o, 2006, São Paulo: FMZU - USP, 2006, p. 30-54.

SANTOS, R. M.; VASCONCELOS, J. L. M.; PEREZ, G. C.; MACIEL, A. B. B.; SÁ FILHO, O. G. Serum progesterone concentrations in Nelore x Angus heifers treated with CIDR 1.38 g or CIDR 1.9 g device. **Journal Dairy Science**, v.83 (Suppl.1), p.214 (Abstract), 2004.

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.

SAVOURET, J. F.; MISRAHI, M.; MILGROM, E. Molecular action of progesterone. **International Journal Biochemical**, v.22, p.579-594, 1990.

SCHIMITT, E.J.P.; BARROS, C. M.; FIELDS, P. A.; FIELDS, M.J.; DIAZ, T.; KLUGE, J. M.; et al. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle. **Journal Animal Science**, v.74, p.1915–1929, 1996.

SHAPIRO, S.S.; DYER, R.D.; COLAS, A.E. Progesterone-induced glycogen accumulation in human endometrium during organ culture. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.136, p.419-425, 1980.

SHELDRIK, E. L.; FLICK-SMITH, H. C.; DOS SANTOS CRUZ, G. J. Oxytocin receptor binding activity in cultured ovine endometrium. **Journal Reproduction Fertility**, v.98, p.521-528, 1993.

SHORT, R. E.; RANDEL, R. D.; BELLOWS, R. A. Factors affecting reproduction in the postpartum cow. **Journal of Animal Science**, v.39, p.226, 1974.

SHORT, R.E.; BELLOWS, R.A.; STAIGMILLER, R.B.; BERARDINELLI, J.G.; CUSTER, E.E. Physiological mechanisms controlling anestrus and infertility in postpartum beef cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, p.799-816, 1990.

SILANIKOVE, N. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. **Livestock Production Science**, v.67, p.1-18, 2000.

SILVIA, W. J.; LEWIS, G. S.; McCracken, J. A.; THATCHER, W. W.; WILSON JR., L. Hormonal regulation of uterine secretion of prostaglandin F_{2α} during luteolysis in ruminants. **Biology Reproduction**, v.45, p.655-663, 1991.

SIMON, L. S. Role and regulation of cyclooxygenase-2 during inflammation. **Am. J. Med.**, v.106, p.37-42, 1999.

SKARZYNSKI, D.; MIYAMOTO, Y.; OKUDA, K. Production of prostaglandin F_{2α} by cultured bovine endometrial cells in response to tumor necrosis factor α: a cell type specificity and intracellular mechanisms. **Biology Reproduction**, v.62, p.1116-1120, 2000.

STAGG, K.; DISKIN, M. G.; SREENAN, J. M.; ROCHE, J. F. Follicular development in long-term anoestrous suckled beef cows fed two levels of energy postpartum. **Animal Reproduction Science**, v. 38, p. 49 - 61, 1995.

STAGG, K. et al. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. **Biology of Reproduction**, v.59, p.777-783, 1998.

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.

STRONGE, A.J.; SREENAN, J.M.; DISKIN, M.G.; MEE, J.F.; KENNY, D.A.; MORRIS, D.G. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. **Theriogenology**, v.64, p.1212-1224, 2005.

THATCHER, W. W.; MOREIRA, F.; SANTOS, J. E. P.; MATTOS, R. C.; LOPES, F. L.; PANCARCI, S. M.; RISCO, C. A. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. **Theriogenology**, v.25, p. 75 - 89, 2001.

TROXEL, T. R.; KESLER, D. J. The effect of progestin and GnRH treatments on ovarian function and reproductive hormone secretions of anestrus postpartum suckled beef cows. **Theriogenology**, v.21, p.699-711, 1984.

UFRRJ, 2013.

http://www.campuscg.ufrrj.br/Precipitacao.asp?Fundo=Imagens_800/Fundo.jpg

Acesso em 30 de julho de 2013.

VASCONCELOS, J. L. M.; SANGSRITAVONG, S.; TSAI, S. J.; WILTBANK, M. C. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. **Theriogenology**, v.60, p.795-807, 2003.

VASCONCELOS, J.L.M.; PEREZ, G.C.; SANTOS, R.M.; SILVA, A.T.N.; MACIEL, A.B.B. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrus Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. **Journal Animal Science**, v. 82 Suppl. 1, p. 67 (Abstract), 2004.

VASCONCELOS, J. L. M.; SÁ FILHO, O. G.; PEREZ, G. C.; SILVA, A. T. N. Intravaginal progesterone device and/or temporary weaning on reproductive performance of anestrus crossbred Angus x Nelore cows. **Animal Reproduction Science**, v.111, p.302-311, 2009.

VEGAS, C. D. Algunas limitaciones reproductivas de las vacas. In: GONZALEZSTAGNARO, C.; SOTO-BELLOSO, E. **Manual de Ganadería Doble Propósito**. 1ª. ed, Maracaibo: Astro Data, S.A., 2005. v.1, cap.8, p.448-452.

VIGHIO, G. H.; LIPTRAP, R. M. Plasma concentrations of oxytocin, prostaglandin and ovarian steroids during spontaneous luteolysis in cow. **Domestical Animal Endocrinology**, v.3, p.479-491, 1986.

VOGG, G.; SOUZA, C. J. H.; JAUME, C. M.; MORAES J. C. F. Utilidade do benzoato de estradiol após suplementação com progestágeno na sincronização deaios de novilhas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p. 41 – 46, 2004.

WECK, J.; FALLEST, P.C.; PITT, L.K.; SHUPNIK, M.A. Differential gonadotropin releasing hormone stimulation of rat luteinizing hormone subunit gene transcription by calcium influx and mitogenactivated protein kinase-signaling pathways. **Molecular Endocrinology**, v.12, p.451–457, 1998.

WHATES, D. C.; ABAYASEKARA, D. R. E.; AITKEN, R.J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction. **Biology Reproduction**, v. 77, p.190-201, 2007.

WILLIAMS, G. L.; ZIEBA, D. A.; AMSTALDEN, M. Leptina: base fisiológica e potencial terapêutico. In: CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 9. 2005, Uberlândia. **Anais...Uberlândia: CONAPEC**, 2005. P. 167-177.

WILTBANK, M. C.; FRICKE, S.; SANGSRITAVONG S.; SARTORI, R.; GINTHER, O. J. Mechanisms that prevents and produce double ovulations in dairy cattle. **Journal Dairy Science**, v.83, p.2998-3007, 2001.

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

WILTBANK, M. C.; SOUZA, A. H.; GUENTHER, J. N. Avaliação da espessura endometrial através de ultrassonografia em momento próximo à IATF como preditor da fertilidade e ambiente hormonal em vacas leiteiras. In: XV Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, 15. Uberlândia. **Anais...Uberlândia**, 2011 p. 124 – 139.

WOODY, C.O.; FIRST, N.L.; POPE, A.L. Effect of exogenous progesterone on estrous cycle length. **Journal Animal Science**, v.26, p.139-141, 1967.

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

YOUNGQUIST, R.S.; THRELFALL, W.R. **Current Therapy in Large Animal Theriogenology**. 2^a Ed. Philadelphia, W. B. Saunders. 1061p. 2007.

YUVAL, Y.; LIPITZ, S. DOR, J.; ACHIRON, R. The relationships between endometrial thickness, and blood flow and pregnancy rates in in-vitro fertilization. **Human Reproduction**, v. 14, p. 1067-1071, 1999.

ZOLLERS, W.G., GARVERICK, H.A., SMITH, M.F., MOFFAT, R.J., SALFEN, B.E., YOUNGQUIST, R.S. Concentrations of progesterone and oxytocin receptors in endometrium of postpartum cows expected to have a short or normal oestrous cycle. **Journal Reproduction Fertility**, v.97, p.329-337, 1993.