

A INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COMO BIOTÉCNICA APLICADA NA REPRODUÇÃO DOS BOVINOS DE CORTE

Rui Machado¹

Rogério T. Barbosa¹

Marco A.C.M. Bergamaschi²

Ricardo A. Figueiredo³

Introdução

A sincronização do estro é uma importante ferramenta para otimizar o manejo reprodutivo em bovinos de corte. Protocolos que concentram a reprodução de vacas cíclicas e induzem a ovulação em novilhas pré-puberes e vacas em anestro aumentam as taxas reprodutivas e aceleram o ganho genético dos rebanhos pelo uso da inseminação artificial (IA). A presente revisão aborda diferentes protocolos de controle do ciclo estral em vacas de corte para a adoção da biotécnica conhecida como IA em tempo fixo (IA_{TF}).

Antecedentes

Um dos principais fatores limitantes da adoção da inseminação artificial em bovinos de corte é a deficiente observação/detecção do estro (PINHEIRO et al., 1998) e as implicações advindas do manejo da separação das vacas a serem inseminadas dentro de grandes rebanhos (KOJIMA, 2003). Como resultante, os rebanhos nos quais se adota a IA podem apresentar índice de serviço muito baixo, com redução da eficiência reprodutiva. Além disso, a maioria dos rebanhos brasileiros é composta por fêmeas zebuínas, as quais apresentam um período de estro muito curto (próximo a 10 horas) e com alta porcentagem de expressão durante a noite e madrugada, dificultando ainda mais a identificação do estro (BARROS et al., 1998). Os recentes avanços dos conhecimentos sobre a fisiologia

¹ Méd.-Vet.; M.Sc.; Dr., Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste;

² Méd.-Vet.; M.Sc.; Dr., Técnico de Nível Superior da Embrapa Pecuária Sudeste;

³ Méd.-Vet.; M.Sc.; Dr., Pesquisador da Embrapa Sede.

do ciclo estral culminaram com o desenvolvimento de protocolos de indução da ovulação e de sincronização do estro eficazes, a ponto de se definir um momento ótimo para a inseminação artificial e proceder a IA_{TF}. Com a aplicação desses protocolos, a taxa de serviço passa a ser de 100%. Entretanto, estes diferentes protocolos hormonais podem apresentar resultados muito variáveis em fertilidade devido ao grande número de fatores envolvidos.

Fatores a serem considerados antes de instituir um programa de IA_{TF}

Escore da Condição Corporal (ECC) - vacas subnutridas ou obesas geralmente não respondem com ovulação aos desafios hormonais impostos. O ideal é que a vaca esteja num ECC próximo a 5 (escala 1 a 9, SPITZER, 1986) e num período que esteja ganhando peso; Condição do Ciclo Estral - vacas cíclicas respondem melhor do que vacas em anestro à maioria dos tratamentos de indução da ovulação. Além disso, há influência do número de dias pós-parto (DPP) pois a fertilidade é mais baixa quando a vacas ovulam após um anestro prolongado. De fato, a primeira fase luteínica pós-parto é de curta duração e ocorre a liberação precoce de PGF_{2 α} no ciclo subsequente, comprometendo o estabelecimento e a manutenção da prenhez (SHAHAM-ALBALANCY et al., 2001). De fato, STEVENSON et alii (2003) verificaram que somente 54% das vacas de corte estavam ciclando ao início da estação de monta e que a ordem de parto, o DPP e o ECC influenciaram esta proporção, a qual aumentou, de 9% aos 30 DPP para 70% aos 90 DPP. Quando o ECC variou 3,5 até 6, a percentagem de vacas cíclicas aumentou num fator de 18% para cada aumento de uma unidade no ECC.

Outros fatores afetam a resposta. A presença do bezerro e a produção de leite reduzem o estímulo endócrino para retomada da ciclicidade. Determinados componentes da dieta podem ter princípios tóxicos ou anti-nutritivos (como o gossipol, contido na semente do algodão). As doenças que comprometem o ambiente uterino (retenção de placenta e metrites) são deletérias à sobrevivência embrionária e fetal. Outras doenças (mastite) e síndromes metabólicas (hipocalcemia) também reduzem a concepção e aumentam as perdas da prenhez.

Há efeito do touro sobre a taxa de concepção, existindo touros que causam maiores perdas da prenhez que outros (LÓPEZ-GATIUS et al., 2002).

Bases fisiológicas

A indução da ovulação é a biotécnica de manipulação do ciclo estral num grupo de fêmeas para induzir grande percentagem delas a ovular, dentro de um período de tempo curto e predeterminado. As vacas podem então ser inseminadas com base na apresentação do estro ou, preferentemente, em horário fixo. Para se formular um protocolo de indução da ovulação/sincronização do estro é necessário conhecer o ciclo estral, que é definido como uma série de eventos que ocorre entre a manifestação de um “cio” (estro) até o subsequente. O estro determina o dia “zero” do ciclo e é o período no qual a vaca está sexualmente receptiva ao touro. Enquanto a vaca não se torna prenhe, o estro irá ocorrer novamente a cada 21 dias, aproximadamente. A *fase folicular* do ciclo estral é caracterizada pelo desenvolvimento de uma estrutura no ovário, denominada folículo, a qual contém a célula sexual feminina, o ovócito. A fase folicular culmina com a ruptura do folículo e conseqüentemente liberação do ovócito, permitindo sua migração ao longo da tuba uterina para encontrar o espermatozóide. A fase *lútea* do ciclo caracteriza-se pela transformação do folículo rompido em corpo lúteo (CL). Esta estrutura secreta a progesterona, hormônio que é responsável pela manutenção da prenhez. Caso o ovócito tenha sido fertilizado, o CL será mantido. Do contrário, a prostaglandina $F_{2\alpha}$, substância de ação local causará sua regressão e desencadeará a ocorrência de nova fase folicular para uma futura fecundação.

As estratégias de manipulação do ciclo estral são: 1^a) supressão da atividade ovariana para retardar o estro; 2^a) regressão prematura do CL para antecipar o início do estro. Em vacas sexualmente maduras, o desenvolvimento folicular espontâneo geralmente ocorre após estes tratamentos. Nas fêmeas em anestro (pré-pubescentes, pós-parto), o desenvolvimento folicular e a ovulação requerem desafios com hormônios gonadotróficos ou liberadores de gonadotrofinas hipofisárias, como segue.

Hormônios para a sincronização do estro e indução da ovulação

O uso de ferramentas de estudo como as dosagens hormonais e a ultrasonografia permitiu o conhecimento mais profundo da fisiologia ovariana, o que vem facilitando a elaboração de esquemas farmacológicos para otimizar a sincronização do cio (várias fêmeas apresentem cio dentro de poucos dias) e/ou a sincronização da ovulação (várias fêmeas ovulem dentro de poucas horas). Estes tratamentos consistem na utilização de hormônios aplicados por via parenteral ou por meio de dispositivos de liberação controlada. Os protocolos mais recentes visam controlar o desenvolvimento do folículo pré-ovulatório e a sua consequente ovulação. A seguir listam-se os principais hormônios empregados.

Prostaglandinas: a $PGF_{2\gamma}$ e seus análogos induzem a luteólise com conseqüente diminuição na secreção de progesterona, cessa-se então o bloqueio da retroalimentação negativa sobre o hipotálamo, permitindo um pico secretório de GnRH e, conseqüentemente, a liberação de um novo pico de LH pela adenohipófise. O LH desencadeia a ovulação de um folículo ovariano pré-ovulatório. Devido seu mecanismo de ação a $PGF_{2\gamma}$ só é eficiente em vacas com corpo lúteo ativo (do 5^o ao 17^o dia do ciclo) e as melhores repostas em sincronização ocorrem se ela for aplicada no final da fase luteínica. Portanto, a $PGF_{2\gamma}$ é ineficaz para fêmeas em anestro e para vacas cíclicas que estejam na fase folicular do ciclo. A via de aplicação é intra-muscular, embora haja relatos de aplicação intra-vulvar. Há uma grande variação de tempo decorrido desde a aplicação da $PGF_{2\gamma}$ e a manifestação do estro, pois esta ocorrência depende do estágio de desenvolvimento do folículo no momento da injeção. Portanto, vacas com folículos maduros no momento da luteólise entram em cio mais cedo que as vacas com folículos imaturos. Esta variabilidade entre o tratamento e a ovulação torna este programa inviável na inseminação artificial em tempo fixo, necessitando de adequada detecção de estro para obter taxas de prenhez satisfatórias (BÓ et al., 2003). De fato, foi relatada resposta em estro de 29 a 60% embora a resposta em ovulação tenha sido de 51% (ALONSO et al., 1995), o que explica as variações nas taxas de prenhez após tratamentos com $PGF_{2\gamma}$. Na Tabela 1 estão mostradas as taxas de prenhez obtidas em diversos experimentos conduzidos nos

Estados Unidos da América (STEVENSON et al., 2003), onde foram usados diferentes protocolos de sincronização do estro/indução da ovulação.

Progesterona e os Progestágenos: são hormônios que mimetizam a ação do CL, suprimindo a secreção de LH e inibindo a ovulação durante o período de sua administração. Para exercerem seu papel fisiológico, estes hormônios requerem liberação lenta, contínua e numa taxa constante. Para tanto, os melhores veículos de administração são dispositivos intra-vaginais ou intra-uterinos (pessários, CIDR, DIB, etc.) para a progesterona ou os implantes sub-cutâneos para progestágenos (norgestomet). Os dispositivos e implantes podem variar no desenho, na quantidade de progesterona (ou progestágeno) impregnada e no tipo de material (polímero de suporte). Os implantes podem até ser reutilizados.

O GnRH (Hormônio Liberador de Gonadotrofinas) e seus análogos e agonistas: induzem o pico pré-ovulatório de LH e a ovulação de um folículo maduro ou sua luteinização. O GnRH induz a ovulação do folículo dominante e o recrutamento sincronizado de uma nova onda folicular num dia aleatório do ciclo estral. A aplicação é intra-muscular.

Os Estrógenos: os sais conjugados de estradiol como valerato, benzoato e cipionato têm ação luteolítica e se usados no final de um tratamento progestogênico (período associado à baixa concentração de progesterona circulante) estimulam, por retro-alimentação positiva, a secreção de GnRH e este, desencadeia o pico pré-ovulatório de LH, induzindo a ovulação.

A eCG ou PMSG (Gonadotrofina Coriônica Equina): mimetiza o FSH, embora possa se ligar também aos receptores de LH, de modo a otimizar o crescimento/maturação final do folículo dominante e estimular a síntese de estradiol. Estimula uma melhor luteinização do folículo ovulado. Seu uso ao final do tratamento progestogênico induz a formação de um corpo lúteo de alta produção de progesterona. O efeito da eCG é mais potente nas vacas lactantes e com baixo ECC, o que coincide freqüentemente com o período puerperal (até 50 dias pós parto). Também é adequado para uso em vacas no anestro. Para vacas com bom ECC e ciclando seu uso é dispensável.

A hCG (gonadotrofina coriônica humana): mimetiza a ação do LH, induz a ovulação de um folículo maduro e otimiza a luteinização, com reflexos sobre a produção de progesterona pelo CL. As maiores concentrações de progesterona proporcionam uma maior taxa de crescimento embrionário e de reconhecimento materno da prenhez (MANN, 2002). Seu uso mais comum é após a IA objetivando reduzir a mortalidade embrionária precoce pela otimização da função luteínica.

Sincronização do estro com o uso de PGF_{2γ} - principais protocolos

PROTOCOLO 1: Duas aplicações de PGF_{2γ}, com intervalo de 11 a 14 dias para garantir que, a maioria das vacas tenham um CL responsivo a esta no momento da segunda dose. As desvantagens são o custo e o trabalho envolvidos. A observação do estro é concentrada após a segunda aplicação (até 5 dias).

PROTOCOLO 2: Aplicação de uma dose de PGF_{2γ}, seguida de observação do estro e IA durante 11 dias. Uma 2^a aplicação é efetuada **somente** nas vacas que não manifestaram estro (não inseminadas). Após esta 2^a dose segue-se com a observação de cio e IA. Este programa requer menor número de aplicações de PGF_{2γ}, mas o período de observação de cio é maior que o método anterior.

PROTOCOLO 3: Detecta-se o estro por 5 dias e inseminam-se todas as vacas em cio nesse período. No 6^o dia aplica-se uma dose de PGF_{2γ} nas vacas restantes do lote, (que não haviam apresentado estro) e segue-se com a observação de cio e IA. Este é um método mais econômico, pois requer apenas uma aplicação e nem todos os animais receberão esse tratamento.

Indução da ovulação com GnRH e prostaglandina

Uma aplicação de GnRH (análogos ou agonistas) é feita para induzir a ovulação do folículo dominante e o recrutamento sincronizado de uma nova onda folicular num dia aleatório do ciclo estral (D0). Sete dias mais tarde (D7) injeta-se PGF_{2γ}.

para induzir a luteólise, reduzir a progesterona circulante e induzir a ovulação. Em seguida observa-se o cio e procede-se a IA.

Protocolos para Inseminação Artificial em Tempo Fixo

OVSYNCH e suas variações

O protocolo "OvSynch" (PURSLEY et al., 1995) é um tratamento baseado numa injeção de GnRH (Dia 0) para induzir a ovulação e sincronizar a emergência de uma nova onda folicular seguido (sete dias mais tarde - D7) por uma dose de PGF₂, para causar a luteólise e por uma 2ª injeção de GnRH dois dias mais tarde (D9), a qual irá sincronizar a ovulação. Assim, a IA é feita em tempo fixo, entre 12 e 18 h após esta 2ª injeção do GnRH. Este protocolo não produz resultados satisfatórios em vacas em anestro e também não é recomendado para novilhas porque a maioria destes animais apresenta três ondas de crescimento folicular ovariano e, o referido tratamento, tem melhores respostas com animais que apresentam duas ondas. Este tratamento já recebeu adaptações como a substituição da segunda dose de GnRH por benzoato de estradiol com resultados satisfatórios. Outra alternativa é associar uma suplementação progestogênica (tabela 1). As taxas de gestação em *Bos indicus* têm sido semelhantes às observadas em *Bos taurus* (42 a 48%) quando utilizado em animais ciclando. Porém, para novilhas e vacas em anestro esta taxa é muito baixa (14,9%; WILLIAMS et al., 2002).

Os protocolos com progestágenos

O uso de progesterona ou de progestágenos permite sincronizar o cio e a ovulação de novilhas e de vacas cíclicas ou em anestro pós-parto. Os dispositivos de progesterona são mantidos na vagina por um período de 7 ou 8 dias (alguns protocolos utilizam 9 ou 10). Administram-se 2 mg de benzoato de estradiol (BE) por via intramuscular (IM) à inserção do dispositivo (D0). No D7 ou D8 retira-se o dispositivo e aplica-se PGF₂. Após 24h é administrado 1 mg de BE. A IA_{TF} é feita de 52 a 56 h após a remoção do dispositivo ou, cerca de 30 h após o BE. O

dispositivo implantado mimetiza a fase luteínica e a retirada deste (associada ou não à uma aplicação de PGF_{2α}) asseguram a interrupção desta fase e proporcionam ao folículo dominante um ambiente hormonal favorável à maturação folicular final. Para diminuir a variação no momento da ovulação, recomenda-se a aplicação de benzoato de estradiol ou de GnRH próximo a retirada do implante. No caso dos implantes com progestágeno, eles são utilizados para inibir o desenvolvimento de um CL em fêmeas que ovularam próximo a data de inserção do implante ou inibir a ovulação se a fêmea estiver no final do ciclo estral. Então, a permanência “in situ” do implante é de 09 dias, pois a exposição aos progestágenos por períodos maiores de 10 dias, na ausência de um CL, pode induzir a ocorrência de folículos persistentes e reduzir a fertilidade. Assim deve-se induzir a ovulação ou a atresia do folículo dominante presente no ovário, no momento da inserção do dispositivo de progesterona ou progestágeno. O estradiol ou o GnRH conseguem promover tais efeitos. Além disso, o estradiol, em combinação com progestágeno ou progesterona induz a regressão luteínica.

A contribuição da Embrapa Pecuária Sudeste

A Embrapa Pecuária Sudeste realizou e está realizando diversos experimentos sobre as bases fisiológicas e a aplicação da IA_{TF} em vacas de corte. Na seqüência são apresentadas alguns dos resultados mais relevantes.

O uso do protocolo “**OvSynch**” num grupo de vacas Nelore sem bezerro, e com taxa de ciclicidade desconhecida produziu uma baixa taxa de parição (34,5%; MACHADO ET AL., 2005). As avaliações ultra-sonográficas e endocrinológicas do ciclo estral sincronizado mostraram que a elevação da concentração de progesterona foi tardia após a indução da ovulação (MACHADO et al., 2006a). Tal ocorrência, já havia sido cogitada para vacas *Bos taurus* (MANN & LAMMING, 2001). Portanto, tal protocolo pode ter sua aplicação limitada apenas à vacas cíclicas.

Em outras ações de pesquisa, verificou-se que a **hCG** aplicada 05 dias após a IA_{TF} em doses de 2500 a 300UI teve marcado efeito luteotrófico pois aumentou as concentrações de progesterona ao longo de toda a fase luteínica e

Tabela 1 – Taxas de prenhez de acordo com tratamento usado

| Tratamento | Protocolo de inseminação artificial | n | Taxa de prenhez (%) |
|----------------------------------|--|----------|----------------------------|
| 2 x PGF | IA _{OE} | 99 | 69 |
| 2 x PGF | IA _{TF} | 80 | 23 |
| 2 x PGF + GnRH + NORG (8d) | IA _{OE} | 65 | 63 |
| 2 x PGF+ GnRH + NORG (8d) + GnRH | IA _{TF} | 108 | 58 |
| | | | |
| GnRH + PGF | IA _{OE} | 289 | 38 |
| 2x PGF | IA _{OE} | 284 | 28 |
| GnRH + NORG (7d) + PGF | IA _{OE} | 289 | 42 |
| GnRH + NORG (7d) + PGF + GnRH | IA _{OE} | 78 | 54 |
| GnRH + PGF | IA _{OE} + IA _{TF} | 86 | 59 |
| | | | |
| GnRH + PGF | IA _{OE} | 184 | 54 |
| GnRH + PGF | IA _{TF} | 175 | 33 |
| GnRH + PGF | IA _{TF} | 174 | 34 |
| | | | |
| GnRH + PGF + GnRH | IA _{TF} | 92 | 61 |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} | 95 | 66 |
| | | | |
| GnRH + PGF + GnRH | IA _{TF} | 91 | 31 |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} | 92 | 51 |
| | | | |
| -- | IA _{TF} | 305 | 46 |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} | 291 | 55 |
| | | | |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} às 48h | 90 | 39 |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} às 48h | 88 | 50 |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} às 60h | 92 | 46 |
| GnRH + CIDR (7d) + PGF + GnRH | IA _{TF} às 60h | 89 | 51 |

Fonte: STEVENSON et al. (2003);

PGF= duas injeções de PGF 2a dadas num intervalo de 14 dias; GnRH = Hormônio liberador de gonadotrofinas; NORG = implante auricular para liberação lenta de norgestomet (progestágeno); CIDR = dispositivo de aplicação vaginal para liberação lenta de progestyeroína; IA_{TF} = inseminação artificial em tempo fixo; IA_{OE} = inseminação artificial após observação do estro durante 120h.

retardou a ocorrência da luteólise natural, tanto para vacas da raça Aberdeen Angus (*Bos taurus taurus*; MACHADO et al., 2006b) como para vacas da raça Nelore (*Bos taurus indicus*; MACHADO et al., dados não publicados). Esta ação foi inclusive capaz de atenuar os efeitos luteolíticos de estrógenos aplicados em vacas recém inseminadas (MACHADO et al., 2005), resultados consonantes com achados prévios (SCHIMITT et al., 1996).

Noutros experimentos foi estabelecida e quantificada a ação estimulatória da **eCG** sobre o desenvolvimento do corpo lúteo formado após a sincronização do estro, e sobre a concentração plasmática de progesterona. A seguir testou-se o protocolo em vacas Nelore lactantes. A sincronização de estro foi realizada utilizando-se solução injetável (IM), constituída de estrógeno (5mg de valerato de estradiol) e progestágeno (3 mg de norgestomet), simultaneamente à inserção de um implante auricular (SC) de silicone contendo 3 mg de norgestomet⁴. Na retirada do implante foram administradas 400 UI de eCG. Verificou-se que a eCG não aumentou a taxa de ovulação nem alterou o momento da ovulação ou as dimensões do folículo pré-ovulatório (BERGAMASCHI et al., 2005). No entanto, as dimensões do corpo lúteo que foi formado na fase luteínica subsequente e a produção de progesterona foram maiores para vacas tratadas com a gonadotrofina (BERGAMASCHI et al., 2006). Além disso, foi constatado que um importante contingente (35,3%) de vacas tratadas com o progestágeno ovularam mesmo sem terem apresentado estro, o que recomenda a IATF em tempo fixo, independentemente da manifestação do “cio”. Não obstante, resultados preliminares de um experimento conduzido por BARBOSA et al. (Dados não publicados) mostraram que vacas tratados como descrito acima (implante + eCG) e submetidas a IA_{TF} 54-56horas depois da retirada do implante tiveram taxa de prenhez (entre 60 e 80 dias) de 66,1 % (80/121) e que a aplicação de PGF_{2γ} no momento da retirada do implante afetou significativamente ($P < 0,05$; $\chi^2 = 4,33$) aquela porcentagem (57,3% com PGF_{2γ} e 75,0 % para o controle). O tratamento com eCG no momento da retirada do dispositivo de progesterona aumenta a

⁴ CRESTAR® - INTERVET INTERNATIONAL B. V.

ciclicidade e a taxa de prenhez em vacas com estresse nutricional (ROCHE et al., 1992). Segundo BARUSELLI et al. (2004) o aumento da taxa de concepção em animais tratados com eCG pode estar relacionado ao incremento na taxa de ovulação, principalmente em animais em anestro, e ao aumento das concentrações plasmáticas de progesterona no diestro do ciclo subsequente à inseminação artificial em tempo fixo. Conferindo, desta forma, melhores condições para o desenvolvimento embrionário e à manutenção da gestação. Tal efeito se manifesta principalmente em vacas *Bos indicus* em amamentação, no período de anestro pós-parto (BARUSELLI et al., 2004; BÓ et al., 2003).

Considerações Finais

A indução da ovulação pode representar uma ferramenta poderosa para ampliar a escala do uso da inseminação artificial em rebanhos bovinos de corte. De fato, têm sido relatadas taxas de prenhez elevadas após a IA_{TF}. No entanto, para atingir tais resultados é imperativo que todos os fatores de variação da resposta sejam considerados para se escolher o protocolo adequado e as condições de sua aplicação.

Referências Bibliográficas

ALONSO, A.; MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; TRIBULO, H. E.; CARCEDO, J.; TRIBULO, R.; MENAJOVSKY, J. R. Niveles de hormona luteinizante y de estrógeno em hembras *bos indicus* tratadas com prostaglandina F₂? . **Revista Argentina de Producción Animal**, v. 15, p. 961-963, 1995.

BARROS, C. M.; MOREIRA, M. B. P.; FERNANDES, P. Pharmacological manipulation of estrous cycle to improve artificial insemination or embryo transfer programs. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 26, n. 1, p. 179-198. 1998. Suplemento 26.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E. L.; MARQUES, M. O.; NASSER, L. F.; BÓ, G. A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479-86, 2004.

BERGAMASCHI, M.A.C.M.; VICENTE, W.R.R.; BARBOSA, R.T.; MACHADO, R.; IBIAPINA, B.T.; BARUSELLI, P.S.; ALENCAR, M.M.; BINELLI, M. Estrus behaviour and ovulation rate in Nelore females synchronized with progestin, estradiol and eCG. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33 (suplemento 1) p. 273, 2005. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 20, 2005, Angra dos Reis. *Anais*. Angra dos Reis: Sociedade Brasileira de Transferência de embriões, 2005. P.273s. (disponível em CDrom).

BERGAMASCHI, M.A.C.M.; VICENTE, W.R.R.; MACHADO, R.; BARBOSA, R.T.; BINELLI, M. Effects of eCG on corpus luteum development and progesterone concentration. In: WORLD BUIATRICS CONGRESS, 25., 2006. Lyon, France. *Proceedings*. Lyon: International Buiatrics Society, 2006. (disponível em CD-rom).

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.

FIGUEIREDO, R. A.; BARROS, C. M.; PINHEIRO, O. L.; SOLER, J. M. P. Ovarian follicular dynamics in nelore breed (*bos indicus*) cattle. **Theriogenology**, v. 47, p. 1489-1505, 1997.

KOJIMA, F. N. The estrous cycle in Cattle, Physiology, endocrinology and follicular waves. **The Professional Animal Scientist**, v. 19, n. 1, p. 83-95, 2003.

LÓPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P. ; YÁÑIZ, J.; RUTLLANT, J. LÓPEZ-BÉJAR, M. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. **Animal Reproduction Science**, v. 57, p. 1251-1261, 2002.

MACHADO, R. BARBOSA, R. T.; BERGAMASCHI, M. A. C. M. Sincronização da ovulação em vacas da raça Nelore e seus efeitos na função ovariana. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006a. (Boletim de Pesquisa / Embrapa Pecuária Sudeste; 7). Disponível em: <http://extranet.cppse.embrapa.br/servicos/publicacaogratis/boletim-de-pesquisa-desenvolvimento/Boletimp-d-7.pdf/view>. Acesso em 12 janeiro 2007.

MACHADO, R. BARBOSA, R.T.; SILVA, J.C.B. et al. A redução da mortalidade embrionária – estratégia hormonal para otimizar a função luteínica em bovinos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2006b. 11 p. (Embrapa Pecuária Sudeste. Circular Técnica, 51). Disponível em: <http://www.cppse.embrapa.br/servicos/publicacaogratis/circular-tecnica/circular51.pdf/view>. Acesso em 26 de fevereiro 2007.

MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M.; BARBOSA, R.T.; MADUREIRA, E.H.; ALENCAR, M.M.; BISINOTTO, R.S.; BINELLI, M. Taxas de prenhez de vacas Nelore após a inseminação artificial em tempo fixo e suplementação com agentes luteotróficos ou anti-luteolíticos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33 (suplemento 1) p. 278, 2005. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSFERÊNCIA DE EMBRIÕES, 20, 2005, Angra dos Reis. *Anais*. Angra dos Reis: Sociedade Brasileira de Transferência de embriões, 2005. P. 278s. (disponível em CDrom).

MANN, G. E. Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine. THE WORLD BUIATRICS CONFERENCE, **Proceedings**, p. 300-306, 2002.

MANN, G. E.; LAMMING, G. E. Relationship between maternal endocrine environment early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. **Reproduction**, v. 121, p. 175-80, 2001.

MIZUTA, K. **Estudo comparativo dos aspectos comportamentais do estro e dos teores plasmáticos de Lh, FSH, progesterona e estradiol que precedem a ovulação em fêmeas bovinas nelore (*bos taurus indicus*) e nelore x angus (*bos taurus indicus* x *bos taurus taurus*)**. 2003. 98f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C. M.; FIGUEREDO, R. A.; VALLE, E. R.; ENCARNAÇÃO, R. O.; PADOVANI, C. R. Estrous behaviour and the estrus-to-ovulation interval in nelore cattle (*bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F2? or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49, p. 667-681, 1998.

PURSLEY, J. R.; MEE, M. O . WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PG F₂ and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, p. 915-923, 1995.

ROCHE JF, CROWE MA, BOLAND MP. 1992. Postpartum anestrus in dairy and beef cows. **Animal Reproduction Science**, 28:371-378.

SCHMITT, E. J. P.; DIAZ, T.; BARROS, C. M.; DE LA SOTA, R. L.; DROST, M. FREDERICKSSON, E. W.; STAPLES, C. R.; THORNER, R.; THATCHER, W. W. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first wave follicle with hCG or an agonist of GnRH. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1074-1083, 1996.

SHAHAM-ALBALANCY, A.; FOLMAN, Y.; KAIM, M.; ROSENBERG, M.; WOLFENSON, D. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF₂ secretion in the subsequent oestrous cycle. **Reproduction**, v. 122, p. 643-648, 2001.

SPITZER, J. C. Influences of nutrition on reproduction in beef cattle. In: MORROW, D. A. (Ed.). **Current therapy in theriogenology**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p. 320.

WILLIAMS, S. W.; STANKO, R. L.; AMSTALDEN, M.; WILLIAMS, G. L. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus*-influenced cattle managed on the Texas gulf coast. **Journal of Animal Science**, v. 80, p. 1173-1178, 2002.