

## Uso do hCG, GnRH ou 17 $\beta$ -Estradiol e progesterona associados ao acetato de melengestrol e prostaglandina f2 $\alpha$ em novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)

Claudia Maria BERTAN<sup>1</sup>  
 Mario BINELLI<sup>1</sup>  
 Paulo Henrique Mazza  
 RODRIGUES<sup>2</sup>  
 Eneiva Carla Carvalho  
 CELEGHINI<sup>1</sup>  
 Alexandre Barreto de  
 ALMEIDA<sup>1</sup>  
 Luis Augusto Ferreira  
 ROSSA<sup>1</sup>  
 Pietro Sampaio BARUSELLI<sup>1</sup>  
 Ed Hoffmann MADUREIRA<sup>1</sup>

**Correspondência para:**  
 CLAUDIA MARIA BERTAN  
 Centro de Biotecnologia em Reprodução  
 Animal  
 Faculdade de Medicina Veterinária e  
 Zootecnia  
 Universidade de São Paulo  
 Av. Duque de Caxias Norte, 225  
 13630-000 - Pirassununga - SP  
 cbertan@fmvz.usp.br

Recebido para publicação: 06/10/2003  
 Aprovado para publicação: 15/03/2005

1 - Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP  
 2 - Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga – SP

### Resumo

O objetivo do presente experimento foi avaliar a performance reprodutiva e as características de estros em novilhas cruzadas de corte (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com o protocolo MGA/Prostaglandina (PG) em associação a outros hormônios. No dia 0 (Dia 0 = início da ingestão do MGA) as novilhas foram distribuídas ao acaso para receber 2mL de solução salina (grupo Salina), 2500UI de hCG (grupo hCG), 20 $\mu$ g de acetato de busarelina (grupo GnRH) ou 5mg de 17 $\beta$ -estradiol + 100mg de progesterona (grupo 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>). Amostras de sangue foram colhidas nos dias - 7, 0, 7 e 10 para a mensuração das concentrações plasmáticas de progesterona. Independentemente do tratamento, todas as novilhas receberam 0,5mg MGA/animal/dia durante 8 dias (Dia 0 ao 7) e PG (Dia 7). Os estros foram observados durante 120h, a partir da injeção de PG, pelo sistema "Heat-Watch". As novilhas foram inseminadas 12 horas após o início dos estros ou 72h depois da injeção de PG. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após a última inseminação, por ultrassonografia. As respostas em estros foram de 50,0%, 22,2%, 59,5% e 71,8% para os grupos Salina, hCG, GnRH e 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>, respectivamente (P $\leq$ 0,01). O intervalo médio da injeção de PG ao estro foi de 72,8  $\pm$  22,2, 102,0  $\pm$  22,7, 84,6  $\pm$  19,0 e 72,5  $\pm$  24,4 horas (P $\leq$ 0,01), sendo o grau de sincronização similar entre os grupos. As taxas de concepção foram de 57,9%, 37,5%, 40,9% e 39,3% e as taxas de prenhez de 29,0%, 11,1%, 27,0% e 28,2%, para os grupos Salina, hCG, GnRH e 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>, respectivamente. Não houve efeito do tratamento na duração dos estros (10,4  $\pm$  5,7 horas), número de montas (23,0  $\pm$  16,9) e duração das montas (2,7  $\pm$  0,3 segundos), sendo os valores entre parênteses correspondentes às médias gerais e desvios padrão. Em conclusão, a performance reprodutiva não foi alterada pela adição do hCG, GnRH ou 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub> ao protocolo de sincronização MGA/PG.

### Palavras-chave:

Estro animal.  
 Sincronização.  
 Telemetria.  
 Acetato de melengestrol.  
 Prostaglandinas.

### Introdução

Em fêmeas bovinas, o acasalamento programado pela utilização da técnica de inseminação artificial (IA) pode ser facilitado pelo emprego de protocolos que promovam a sincronização dos estros. Tais protocolos

possibilitam que maior quantidade de fêmeas seja inseminada em menor intervalo de tempo, ou ainda, que todas as fêmeas sejam inseminadas em tempo fixo.

O acetato de melengestrol (MGA; 17-acetoxy-6-methyl-16-methylenepregna-4,6-diene-3,20-dione) é um progestágeno de uso

oral, de fácil administração, baixa toxicidade e baixo custo, vantagens que o tornaram uma alternativa promissora na sincronização de estros. O MGA atua inibindo a secreção pulsátil de LH pela adenohipófise, impedindo a ovulação e a ocorrência de estros durante o período de ingestão<sup>1</sup>. Os tratamentos com progestágenos iniciados na presença de um corpo lúteo permitem um padrão secretório de LH típico da fase de diestro, caracterizado por baixa frequência e alta amplitude de pulsos<sup>2,3</sup>. Contudo, fêmeas tratadas na ausência de um corpo lúteo mantêm um padrão secretório típico da fase folicular, caracterizado por pulsos de LH de alta frequência e baixa amplitude, o que determina a manutenção prolongada do folículo dominante, interrompendo portanto, o padrão usual do crescimento folicular em ondas<sup>4</sup>. Nesta condição, o folículo dominante continua seu crescimento e persiste no ovário por um período maior do que o observado no ciclo estral típico<sup>5</sup>. Segundo Mattheij et al.<sup>6</sup> oócitos originados de folículos persistentes apresentam uma reativação precoce da divisão meiótica, determinando uma diminuição da viabilidade do oócito e redução das taxas de prenhez.

Alguns autores sugeriram que o protocolo MGA/PG iniciado na ausência de um corpo lúteo, quando associado a alguns hormônios preveniria a formação de folículos persistentes. Tais hormônios associados promoveriam a ovulação ou atresia dos folículos dominantes no início da ingestão de MGA. Vários estudos foram conduzidos para avaliar o efeito do hCG<sup>7,8,9</sup> e do GnRH<sup>10,11,12,13,14,15</sup> no ciclo estral de fêmeas bovinas. Em tais estudos, demonstrou-se que ambos seriam capazes de promover a ovulação do folículo dominante presente no momento do tratamento, resultando na formação de um corpo lúteo acessório e na emergência de uma nova onda folicular na maioria das fêmeas tratadas. Em outros estudos verificou-se que o tratamento com 17 $\beta$ -estradiol determina a atresia do folículo dominante e emergência de uma nova onda folicular<sup>16,17</sup>, sendo sua eficiência melhorada

quando associado à progesterona<sup>18,19</sup>. A hipótese do presente trabalho é de que a associação desses hormônios ao protocolo MGA/PG favorece um maior grau de sincronização e melhores taxas de concepção e prenhez. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do hCG, GnRH ou 17 $\beta$ -estradiol associados à progesterona em novilhas tratadas com MGA/PG na resposta em estros, intervalo aos estros, grau de sincronização, características de estros, taxas de concepção e de prenhez.

## Materiais e Métodos

### Local do Experimento e Animais

O experimento foi realizado no Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal, na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, de fevereiro a maio de 1999. Foram utilizadas 150 novilhas mestiças (*Bos taurus indicus*  $\times$  *Bos taurus taurus*) com a idade média de  $26 \pm 2,2$  meses. As fêmeas foram mantidas em piquetes, com água à disposição. A alimentação foi baseada no pastejo (*Brachiaria decumbens* var. *marandui*) com suplementação mineral.

### Delineamento Experimental

As fêmeas foram distribuídas em quatro grupos considerando-se de maneira equitativa a idade, o peso e a condição corporal de acordo com Richards, Spitzer e Warner<sup>20</sup> O peso médio foi de  $380,1 \pm 67,7$ ;  $374,0 \pm 44,0$ ;  $377,4 \pm 51,8$  e  $373,8 \pm 49,4$  Kg para os grupos Salina, hCG, GnRH e 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>, respectivamente. A condição corporal média foi de  $4,7 \pm 0,3$ ;  $4,7 \pm 0,3$ ;  $4,9 \pm 0,3$  e  $4,8 \pm 0,3$  respectivamente para os grupos Salina, hCG, GnRH e 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>. A porcentagem de novilhas cíclicas foi de 81,6% (31/38); 100% (36/36); 86,5% (32/37) e 94,9% (37/39) para os grupos Salina, hCG, GnRH e 17 $\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>, respectivamente. Foram consideradas cíclicas as novilhas que apresentaram concentrações plasmáticas de progesterona  $\geq 1$ ng/mL em pelo menos

uma das duas amostras colhidas antes do início dos tratamentos.

O MGA foi fornecido aos animais adicionado ao suplemento mineral protéico, sendo as novilhas submetidas a um período de adaptação, durante os 7 dias que antecederam o início da ingestão do MGA, no qual o sal protéico (Frepal Salutti Complexos Minerai, Passos/MG) foi fornecido na mesma quantidade e nas mesmas condições que seria oferecido durante o tratamento, porém não adicionado de MGA. Todas as novilhas receberam suplemento com 0,5mg de MGA (The Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan/EUA) em 200g de suplemento/cabeça/dia, uma vez ao dia, durante 8 dias, e uma injeção intramuscular (IM) de 15mg de luprostiol (Prosolvim<sup>®</sup>, Intervet, Curitiba/PR) no 8º dia. Os tratamentos representados na figura 1, diferenciaram-se apenas quanto à injeção administrada no 1º dia de ingestão do MGA. Assim, as novilhas receberam 2mL de solução salina IM (grupo Salina; n=38), 2500 UI de hCG (Vetecor<sup>®</sup>, Serono, Barueri/SP) IM (grupo hCG; n=36), 20µg de acetato de buserelina (Conceptal<sup>®</sup>, Hoeschst Russel Vet) IM (grupo GnRH; n=37) ou 5mg de 17β-estradiol (Sigma Aldrich, Oakville, ON, Canadá) associados a 100mg de progesterona (Sigma Aldrich,

Oakville, ON, Canadá) ambos IM (grupo 17β-E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>; n=39).

Imediatamente após a aplicação de PG, as observações de estros foram realizadas continuamente durante um período de até 120h após a injeção de PG, para tanto utilizou-se o sistema de radiotelemetria<sup>21,22</sup> designado de “Heat-Watch” (DDx Incorporated, Denver, Colorado/EUA). Considerou-se o início do estro quando ocorreu a aceitação de pelo menos três montas, com duração ≥ 2s, em um intervalo de duas horas. Considerou-se o final do estro o momento da última monta, desde que esta tivesse ocorrido no máximo 4h após a penúltima. As novilhas detectadas em estro até 72 horas após a aplicação de PG foram inseminadas 12 horas após o início do estro. As demais foram inseminadas nesse horário (72 horas) em tempo fixo. As novilhas detectadas em estro entre 72 e 120 horas foram novamente inseminadas 12 horas após a detecção de estro. Foi utilizado o sêmen de quatro touros, com características físicas e morfológicas dentro dos padrões recomendados, distribuídos uniformemente entre os grupos. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após a última IA, utilizando-se um aparelho de ultra-som (Aloka Ultrasound Diagnostic Equipament, Modelo SSD-500, Tokyo/Japão) com

Tabela 1 - Resposta em estros, grau de sincronização, período de sincronização, taxas de concepção e taxas de prenhez, em novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com hCG, GnRH ou 17β-E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub> associados ao acetato de melengestrol e prostaglandina F<sub>2α</sub>, inseminadas 12 horas após o início dos estros ou 72h depois da injeção de prostaglandina F<sub>2α</sub>, Pirassununga - 1999

Tratamento	Resposta em estros (%) <sup>1</sup>	Grau de sincronização (%) <sup>2</sup>	Período de sincronização <sup>3</sup>	Taxas de concepção (%) <sup>4</sup>	Taxas de prenhez (%) <sup>5</sup>
Salina	50,0 (19/38) <sup>a</sup>	63,2 (12/19)	58 a 82 h	57,9 (11/19)	29,0 (11/38)
hCG	22,2 (08/36) <sup>b</sup>	87,5 (07/08)	96 a 120 h	37,5 (03/08)	11,1 (04/36)
GnRH	59,5 (22/37) <sup>a</sup>	59,1 (13/22)	68 a 92 h	40,9 (09/22)	27,0 (10/37)
17β-E <sub>2</sub> +P <sub>4</sub>	71,8 (28/39) <sup>a</sup>	53,6 (15/28)	78 a 102 h	39,3 (11/28)	28,2 (11/39)
Média Geral	51,3 (77/150)	-	-	44,2 (34/77)	24,0 (36/150)
χ <sup>2</sup>	19,75	3,083	-	1,96	4,35
P	< 0,001	0,379	-	0,580	0,225

<sup>1</sup> Porcentagem de fêmeas detectadas em estro até 120 horas após a aplicação de PG. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>2</sup> Porcentagem de fêmeas detectadas em estro, no período de 24 horas de maior ocorrência de estros, em relação ao número de fêmeas em estro, durante o período de sincronização de 120 horas. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>3</sup> Intervalo de 24 horas, com maior grau de sincronização.

<sup>4</sup> Porcentagem de fêmeas que conceberam, em relação ao total de fêmeas inseminadas em estro. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>5</sup> Porcentagem de fêmeas prenhes em relação ao número total de fêmeas tratadas. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>a,b</sup> Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ao nível de 5% para o teste do χ<sup>2</sup>.

Tabela 2 - Porcentagem de novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com hCG, GnRH ou 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> + P<sub>4</sub> associados ao acetato de melengestrol e prostaglandina F2 $\alpha$ , que apresentaram concentrações de progesterona (P<sub>4</sub>) plasmática  $\geq$  1ng/mL no dia da aplicação de PG, 72 horas após a aplicação de PG e resposta em estros, Pirassununga - 1999

Tratamento	Concentrações > 1ng/mL no dia da administração da PG <sup>1</sup>	Concentrações < 0,5 ng/mL de P <sub>4</sub> 72 h após PG <sup>2</sup>	Concentrações de 0,5 - 1,0 ng/mL de P <sub>4</sub> 72 h após PG <sup>3</sup>	Concentrações > 1ng/mL de P <sub>4</sub> 72 h após PG <sup>4</sup>	Resposta em estros <sup>5</sup>
Salina	36,8 (14/38) <sup>b</sup>	57,1 (08/14) <sup>bc</sup>	0,0 (00/14) <sup>b</sup>	42,9 (06/14) <sup>a</sup>	57,1 (08/14) <sup>a</sup>
hCG	72,2 (26/36) <sup>a</sup>	46,2 (12/26) <sup>c</sup>	34,6 (9/26) <sup>a</sup>	19,2 (05/26) <sup>ab</sup>	15,4 (04/26) <sup>b</sup>
GnRH	56,8 (21/37) <sup>ab</sup>	81,0 (17/21) <sup>ab</sup>	9,6 (02/21) <sup>b</sup>	9,6 (02/21) <sup>b</sup>	57,1 (12/21) <sup>a</sup>
17 $\beta$ -E <sub>2</sub> + P <sub>4</sub>	43,6 (17/39) <sup>b</sup>	88,2 (15/17) <sup>a</sup>	5,9 (01/17) <sup>b</sup>	5,9 (01/17) <sup>b</sup>	70,6 (12/17) <sup>a</sup>
$\chi^2$	10,837	10,98	11,66	8,62	15,689
P	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,01

<sup>1</sup> Porcentagem de animais que apresentaram concentrações de progesterona plasmática  $\geq$  1ng/mL no dia da administração de PG. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>2</sup> Porcentagem de animais que apresentaram concentrações de progesterona plasmática < 0,5ng/mL 72 horas após a aplicação de PG, considerando as novilhas com concentrações de progesterona  $\geq$  1ng/mL no momento da aplicação de PG. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>3</sup> Porcentagem de animais que apresentaram concentrações de progesterona plasmática de 0,5 - 1,0ng/mL 72 horas após a aplicação de PG, considerando as novilhas com concentrações de progesterona  $\geq$  1ng/mL no momento da aplicação de PG. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>4</sup> Porcentagem de animais que apresentaram concentrações de progesterona plasmática > 1,0ng/mL 72 horas após a aplicação de PG, considerando as novilhas com concentrações de progesterona  $\geq$  1ng/mL no momento da aplicação de PG. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>5</sup> Porcentagem de fêmeas em estro até 120 horas após a aplicação de PG, considerando apenas as novilhas com concentrações de progesterona  $\geq$  1ng/mL no momento da aplicação de PG. Valores entre parênteses = proporção.

<sup>a,b</sup> Valores seguidos por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem entre si ao nível de 5% para o teste do  $\chi^2$ .

Tabela 3 - Duração dos estros, número de montas e duração das montas, durante o período de sincronização em novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com hCG, GnRH ou 17 $\beta$ -E<sub>2</sub> + P<sub>4</sub> associados ao acetato de melengestrol e prostaglandina F2 $\alpha$ , Pirassununga - 1999

Tratamento	Duração dos estros <sup>1</sup> (h)	Número de montas <sup>2</sup>	Duração das montas <sup>3</sup> (s)
	Média $\pm$ Desvio Padrão	Média $\pm$ Desvio Padrão	Média $\pm$ Desvio Padrão
Salina	10,7 $\pm$ 4,5	26,2 $\pm$ 13,6	2,6 $\pm$ 0,3
hCG	14,4 $\pm$ 5,8	25,5 $\pm$ 12,3	2,8 $\pm$ 0,4
GnRH	8,4 $\pm$ 5,7	23,0 $\pm$ 20,3	2,7 $\pm$ 0,4
17 $\beta$ -E <sub>2</sub> + P <sub>4</sub>	10,5 $\pm$ 5,9	20,1 $\pm$ 17,3	2,6 $\pm$ 0,3
Média Geral	10,4 $\pm$ 5,7	23,0 $\pm$ 16,9	2,7 $\pm$ 0,3
P	0,076	0,648	0,589

<sup>1</sup> Período compreendido entre o início do estro (primeira monta realizada, quando houve a ocorrência de pelo menos 3 montas em um intervalo de 2 horas, com duração  $\geq$  2s) e o final dos estros (última monta realizada no máximo 4h após a penúltima).

<sup>2</sup> Número de montas com uma duração mínima de 2 segundos.

<sup>3</sup> Duração das montas ocorridas no período de estro.

transdutor linear de 5 MHz.

Amostras de sangue foram colhidas nos dias -7, 0, 7 e 10 (Dia 0 = primeiro dia de ingestão do MGA) por punção da veia jugular. Para avaliar a ciclicidade, foram colhidas duas amostras com um intervalo de 7 dias (-7 e 0) e foram consideradas cíclicas novilhas que apresentaram, em pelo menos uma das amostras, concentração plasmática

de progesterona  $\geq$  1ng/mL. Objetivou-se com as amostras colhidas nos dias sete e dez determinar respectivamente as concentrações plasmáticas de progesterona no momento da aplicação de PG e 72 horas após. As amostras de sangue foram centrifugadas, no período máximo de uma hora após a colheita (2.000g durante 15 minutos) e o plasma armazenado a -20°C. Para a mensuração de progesterona

foram utilizados “Kits” comerciais para radioimunoensaio (RIE) em fase sólida (TKPG Coat a Caunt, DPC, Los Angeles/EUA). Os coeficientes de variação intra-ensaios e inter-ensaios foram de 2,31 e 3,18%, respectivamente.

#### Análise Estatística

Os resultados foram analisados estatisticamente empregando-se os programas computacionais Statistica 5.0<sup>23</sup> e Statistical Analysis System<sup>24</sup>. As variáveis expressas em porcentagem (resposta em estros, grau de sincronização, taxas de concepção e de prenhez) foram analisadas pelo teste de Qui-quadrado, considerando um nível de significância de 5%. As variáveis contínuas (intervalo aos estros, concentrações médias de progesterona no dia da administração de PG, duração dos estros, número de montas e duração das montas) foram submetidas à análise de variância e, quando as diferenças foram significativas ao nível de 5%, as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey.

#### Resultados e Discussão

A resposta em estros foi menor para o grupo hCG ( $P \leq 0,001$ ) do que para os grupos Salina, GnRH e  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$  (Tabela 1) e no geral foram menores do que as relatadas na literatura. A resposta em estros encontrada no grupo Salina assemelha-se aos achados de Mauck et al.<sup>25</sup> e Kastelic et al.<sup>26</sup>, quando relatam respectivamente 56,3% e 47% de respostas em estros. Beal et al.<sup>27</sup> e Chenault, McLlister e Kasson<sup>28</sup> relataram uma resposta em estros de 72% para vacas e novilhas, entretanto, todos esses autores observaram os estros durante períodos de sincronização mais longos quando comparados ao do presente estudo. O grupo GnRH apresentou uma resposta em estros de 59,5%, menor do que a relatada na literatura quando vacas receberam o GnRH 6 a 8 dias antes da PG sem a utilização do MGA, onde observaram-se respostas em estros que variaram de 73% a 89,7%<sup>10,11,12,13,29,30,31,32</sup>. Protocolo semelhante

m estros de 84%<sup>33</sup> e 34,6% e 87% em experimentos realizados com vacas de corte<sup>34</sup>. Ambos os estudos consideraram um período de sincronização de 120h. Pursley, Mee e Wiltbank<sup>14</sup> observaram em novilhas que o GnRH causou a ovulação e a formação de um corpo lúteo acessório em 54% das fêmeas, iniciando uma nova onda folicular em 75% das fêmeas tratadas. Contudo, Rocha<sup>33</sup> verificou que apenas 28,0% das fêmeas ovularam o folículo dominante presente no momento da aplicação de GnRH. O grupo  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$  apresentou 71,8% de resposta em estros, enquanto estudos semelhantes verificaram respostas em estros de 64,2%<sup>35</sup> e 83% em novilhas, em um período de observação de 168h<sup>18,26</sup>. Kastelic et al.<sup>18</sup> obtiveram uma resposta em estros de 80% em novilhas, considerando um período de sincronização de 192h. Rocha<sup>33</sup> observou uma resposta em estros de 70,8% em um período de sincronização de 120h, semelhante ao do presente estudo. Thundathil et al.<sup>34</sup> relataram em vacas de corte respostas em estros de 85,1% e de 65,4%, resultados que, na média, aproximam-se aos do presente estudo.

O grau de sincronização referente ao número de fêmeas detectadas em estro no período de pico de 24 h em relação ao número de fêmeas em estro, durante o período de sincronização de 120 h, encontra-se na tabela 1. Um alto grau de sincronização é imprescindível para o êxito em um programa de sincronização que objetive a realização da IA com tempo fixo. De um modo geral, era esperado um maior grau de sincronização no período próximo às 72h após a aplicação de PG para as novilhas que receberam tratamento adicional para a sincronização das ondas foliculares, evento que não ocorreu.

Brown et al.<sup>36</sup> relataram que o êxito dos tratamentos que utilizam o MGA depende, em grande parte, da porcentagem de fêmeas que estão ciclando antes do início dos tratamentos, entretanto, no presente estudo 90,7% das novilhas foram identificadas como cíclicas. Patterson et al.<sup>37</sup> sugeriram que

a variabilidade na porcentagem de respostas em estros nos tratamentos que utilizam o MGA, pode estar relacionada a variações no consumo do MGA, entre os animais. No presente experimento, considerando que a grande maioria das novilhas estava ciclando, a ausência completa de estros durante o período de ingestão do MGA foi um bom indicício de que o consumo do suplemento ocorreu de maneira adequada. A eficiência na detecção de estros certamente é um fator que interfere na resposta em estros nos programas de sincronização. No presente estudo, a detecção de estros foi realizada pelo sistema “Heat-Watch”, que segundo

Stevenson et al.<sup>38</sup> e Xu et al.<sup>39</sup>, apresenta grande eficiência e acurácia, tornando remota a possibilidade de estros não detectados. Patterson e Corah<sup>40</sup> observaram a presença de um CL funcional em todas as novilhas tratadas com o MGA no momento da aplicação de PG e, no entanto, a porcentagem de novilhas que apresentaram estro foi de 79%. Stevenson, Lucy e Call<sup>41</sup> relataram que outras causas de baixas respostas em estros após a aplicação de PG poderiam ser a incompleta luteólise e a ocorrência de ovulação desacompanhada de estro. Rocha<sup>33</sup> administrou protocolos semelhantes aos do presente estudo em novilhas de corte e

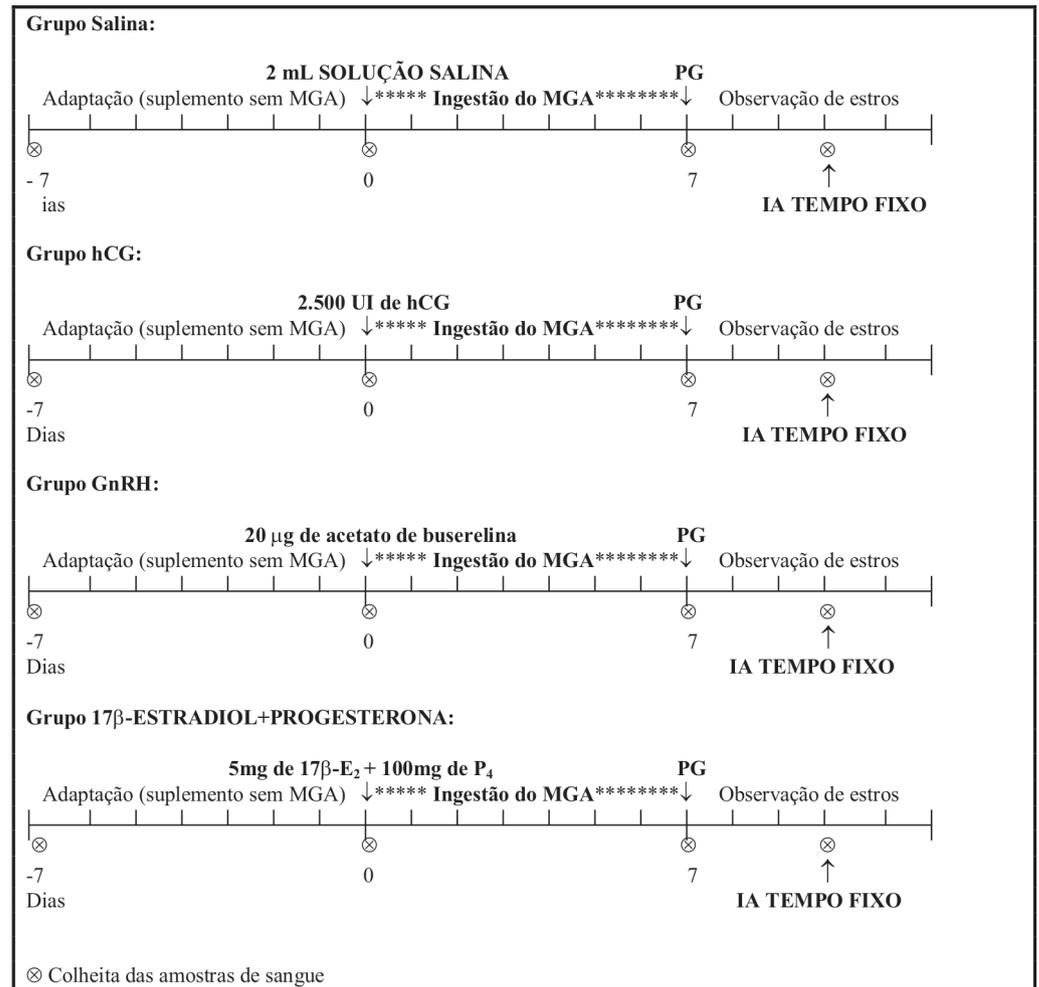


Figura 1 - Esquema dos tratamentos administrados, Pirassununga - 1999

observou que apenas 2% das fêmeas ovularam sem manifestarem aceitação de monta.

A resposta em estros apresentada pelo grupo hCG (22,2%) foi menor que a dos demais tratamentos. Hariadi, Broomfield e Wrigth<sup>9</sup> realizaram dois experimentos sucessivos, nos quais administraram 3.000UI de hCG no 5º dia associados a uma injeção de PG no 12º dia do ciclo estral, e observaram uma resposta em estros de 100% em ambos os experimentos. Entretanto, apenas 46% e 55% dos estros ocorreram no período de até 120h após a PG. Thatcher et al.<sup>29</sup> demonstraram que a frequência de ovulação e formação de um CL acessório pelo hCG é maior entre o 4º e o 7º e entre o 14º e o 16º dias do que entre o 8º e o 13º dias do ciclo. No estudo de Hariadi, Broomfield e Wrigth<sup>9</sup> as fêmeas foram tratadas com o hCG no 5º dia do ciclo estral, momento oportuno para que o folículo dominante pudesse ovular e formar um CL acessório e obtiveram 100% de estros, enquanto que no presente estudo, o hCG foi administrado em diferentes fases do ciclo estral. Uma maior resposta em estros poderia ter sido obtida com um período de observação de estros mais longo, visto que os autores relataram que 54% e 45% dos estros ocorreram após 120h.

Conforme demonstrado na tabela 2, no momento da aplicação de PG, no grupo hCG 72,2% das novilhas apresentaram concentrações plasmáticas de progesterona  $\geq 1$ ng/mL, significativamente maior ( $P \leq 0,05$ ) que naquelas dos grupos Salina (36,8%) e  $17\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub> (43,6%), e sem diferença significativa com relação ao grupo GnRH (56,8%). Entretanto, no grupo hCG, apenas 15,4% das fêmeas com concentração  $\geq 1$ ng/mL no dia da aplicação de PG apresentaram estros, índice significativamente inferior ( $P \leq 0,01$ ) aos grupos Salina (57,1%); GnRH (57,1%) e  $17\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub> (70,6%). A partir de tais observações sugere-se que o hCG inibiu a luteólise e consequentemente a ocorrência de estros. Considerando o alto índice de novilhas com CL presente no término

do tratamento com hCG, seria esperada uma maior resposta em estros nesse grupo após a aplicação de PG, o que não ocorreu. Hariadi, Broomfield e Wrigth<sup>9</sup> registraram que os animais tratados com hCG apresentaram 7 dias após, concentrações plasmáticas médias de 7,3ng/mL de P<sub>4</sub>, maiores do que as concentrações observadas em animais não tratados.

Os intervalos aos estros, definidos como os intervalos entre a aplicação de PG e o estro, foram de  $72,8 \pm 22,2$ ;  $102 \pm 22,7$ ;  $84,6 \pm 19$  e  $72,5 \pm 24,4$  horas para os grupos salina, hCG, GnRH e  $17\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>, respectivamente, tendo sido maior para os animais tratados com hCG ( $P \leq 0,01$ ). A média das concentrações plasmáticas de progesterona 7 dias após o início dos tratamentos foi de  $7,8 \pm 5,5$ ng/mL para o grupo hCG, significativamente maior ( $P \leq 0,001$ ) que aquelas dos grupos Salina ( $2,2 \pm 2,9$ ng/mL); GnRH ( $3,3 \pm 3,4$ ng/mL) e  $17\beta$ -E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub> ( $1,7 \pm 1,9$ ng/mL). Hariadi, Broomfield e Wrigth<sup>9</sup> observaram, nas fêmeas tratadas com hCG que, 48 horas após a administração de PG, as concentrações médias de P<sub>4</sub> foram de  $0,7 \pm 0,08$ ng/mL, maiores que aquelas do grupo controle, que foram de  $0,5 \pm 0,03$ ng/mL, sugerindo que a luteólise nas fêmeas tratadas com hCG teria sido prejudicada. Posteriormente, os autores repetiram o protocolo, porém utilizaram o dobro da dose de PG em um dos grupos tratados com hCG, e os maiores concentrações de P<sub>4</sub> persistiram, evidenciando que a dose de PG não seria um fator limitante para tal evento. No presente estudo, amostras colhidas 72 horas após a administração de PG resultaram em uma média de P<sub>4</sub> de  $0,7 \pm 1,4$ ng/mL no grupo hCG, semelhante àquela descrita pelos autores citados. Considerando apenas as novilhas tratadas com hCG que apresentaram concentrações de progesterona  $\geq 1$ ng/mL no momento da aplicação de PG (Tabela 2), apenas 46,2%; 34,6% e 19,2%, apresentaram concentrações  $< 0,5$ ng/mL; 05 a 1,0ng/mL e  $> 1$ ng/mL respectivamente, 72h após a aplicação de PG. Este grupo diferiu dos demais ( $P \leq 0,01$ ), contendo o maior número de novilhas com concentrações 0,5-1,0ng/

mL após a aplicação de PG, observação que reforça os indícios de que a luteólise teria sido prejudicada em tais animais.

A distribuição do início dos estros de acordo com o tratamento encontra-se representada na figura 2. Kastelic, Bergfelt e Ginther<sup>42</sup> observaram que a luteólise induzida até a metade da fase estática do folículo dominante, período em que o folículo encontra-se apto a ovular, promove o início dos estros entre 48 e 60h após a aplicação de PG. Entretanto, a luteólise induzida após o meio da fase estática, quando o folículo dominante encontra-se fisiologicamente inativo, resulta no crescimento do folículo de uma nova onda até o estágio pré-ovulatório, sendo neste último caso, requerido um intervalo de tempo maior, de 5 a 7 dias, entre a aplicação de PG e o início do estro. Considerando que a precisão dos estros está positivamente associada à homogeneidade do padrão folicular, era esperado que nos grupos tratados para a sincronização das ondas foliculares houvesse menor variabilidade na distribuição dos estros com maior grau de sincronização, o que não ocorreu.

Rocha<sup>33</sup> utilizando protocolos experimentais semelhantes, obteve um intervalo ao estro de  $73,0 \pm 15,6$ h para o grupo Salina; de  $70,2 \pm 24,5$ h para o grupo GnRH e de  $69,7 \pm 19,6$ h para o grupo  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$ , considerando um período de sincronização de 120h. Os intervalos ao estro obtidos no presente experimento foram de  $72,8 \pm 22,2$ h;  $102,0 \pm 22,7$ h;  $84,6 \pm 19,0$ h e  $72,5 \pm 24,4$ h para os grupos salina, hCG, GnRH e  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$ , respectivamente e foram semelhantes aos observados por Rocha<sup>33</sup>. Quando o mesmo autor tratou novilhas com LH obteve um intervalo ao estro de  $67,9 \pm 18,9$ h. Os intervalos ao estro obtidos no presente experimento e no estudo de Rocha<sup>33</sup> demonstraram que o intervalo ao estro em animais tratados com MGA foi maior, em aproximadamente 24 horas, quando comparado a protocolos que utilizam progesterona ou Norgestomet.

O hCG induz um aumento da atividade semelhante ao LH durante 30

horas, período de atuação bastante longo quando comparado aos agonistas do GnRH que atuam aumentando as concentrações de LH por aproximadamente 5 horas<sup>8</sup> e ao próprio LH. A meia-vida mais longa do hCG na corrente sanguínea estabelece uma atuação mais prolongada do hormônio junto ao receptor de LH na superfície das células da granulosa que constituem o corpo lúteo, prolongando o período de secreção de  $\text{P}_4$  pelo CL<sup>8</sup>. Hariadi, Broomfield e Wrigth<sup>9</sup> sugerem que, em fêmeas tratadas com hCG, ocorrem maiores concentrações de  $\text{P}_4$  no diestro, com conseqüente diminuição dos pulsos de LH, assim limitando o crescimento do folículo dominante, que futuramente requer um tempo maior para desenvolver-se a folículo pré-ovulatório, resultando em atraso nos estros e aumento no intervalo aos estros.

A duração dos estros para os diferentes grupos está apresentada na tabela 3. Não houve diferença significativa na duração dos estros para os diferentes grupos de tratamento. A média geral foi de  $10,4 \pm 5,7$ h, variando de 45 minutos a 22,7 horas. Em trabalhos realizados utilizando a radiotelemetria, com novilhas cruzadas de corte, encontrou-se uma duração média dos estros de  $9,43$ h<sup>43</sup> e  $9,38 \pm 0,7$ h<sup>22</sup>. Rocha<sup>33</sup> obteve durações de estros de  $10,3 \pm 4,9$ h para o grupo Salina;  $10,9 \pm 4,5$ h para o grupo GnRH;  $9,6 \pm 5,9$ h para o grupo  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$  e  $12,2 \pm 5,3$ h para o grupo LH, médias semelhantes às observadas no presente experimento. A duração dos estros parece independe do tratamento utilizado para promovê-lo.

O número e a duração das montas para os diferentes grupos de tratamento encontra-se na tabela 3, não tendo havido diferença significativa entre os diferentes grupos de tratamento. A média geral foi de  $23,0 \pm 16,9$  montas, variando de 3 a 81 montas, com duração média de  $2,7 \pm 0,3$ s. Stevenson et al.<sup>21</sup> observaram uma média de  $50,1 \pm 6,4$  montas em novilhas cruzadas sincronizadas. Rae et al.<sup>22</sup> verificaram uma média de  $27 \pm 2,9$  montas, variando de 3 a

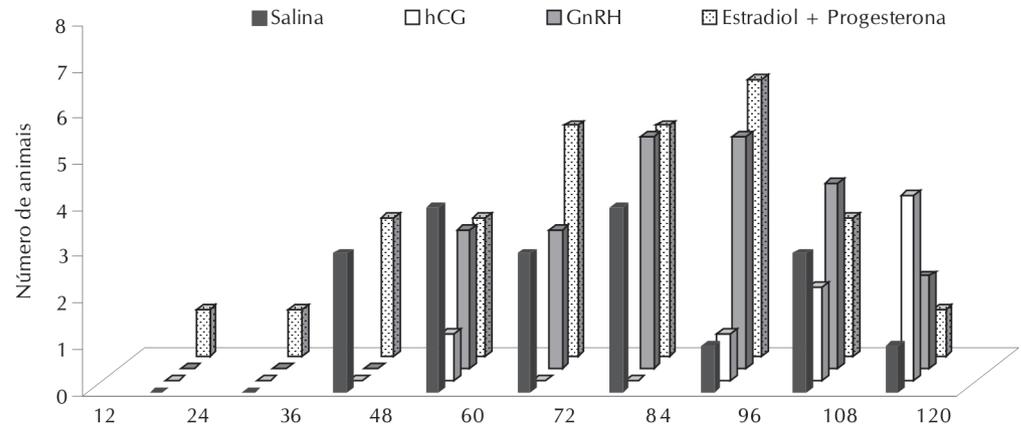


Figura 2 - Distribuição do início dos estros em novilhas cruzadas (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) tratadas com hCG, GnRH ou  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$  associados ao acetato de melengestrol e prostaglandina  $\text{F}_{2\alpha}$ , Pirassununga - 1999

111 montas, considerando o início do estro a primeira das 3 montas ocorridas em um intervalo de 4h, e a última monta o final do estro. A maior média relatada por Stevenson et al.<sup>21</sup> provavelmente ocorreu porque os autores consideraram montas com duração  $\geq 1\text{s}$ , enquanto nesse estudo consideraram-se apenas montas  $\geq 2\text{s}$ . Rocha<sup>33</sup> tratou novilhas cruzadas de corte com protocolos semelhantes aos do presente estudo, e obteve médias, no número e na duração das montas, de  $26,5 \pm 20,4$  montas e de  $2,5 \pm 0,5\text{s}$  para o grupo Salina; de  $29,7 \pm 26,8$  montas e de  $2,5 \pm 0,3\text{s}$  para o grupo GnRH; e de  $23,2 \pm 22,3$  montas e de  $2,8 \pm 0,8\text{s}$  para o grupo  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$ , respectivamente. A duração média das montas no presente estudo foi semelhante àquelas observadas por Rocha<sup>33</sup>, de 2,53 a 2,83s; e Stevenson et al.<sup>21</sup>, de 3,1 a 3,6s.

As taxas de concepção no período de sincronização foram calculadas pelo número de fêmeas que conceberam, em relação ao número de novilhas inseminadas em estro. As taxas de prenhez foram calculadas com base no número de fêmeas que tornaram-se prenhes em relação ao número de novilhas tratadas. As taxas de concepção e de prenhez estão apresentadas na tabela 1. A taxa de concepção mensura a

fertilidade do estro sincronizado, e um sistema ideal de sincronização não deve reduzir a fertilidade do estro induzido. Considerando que as novilhas dos grupos hCG; GnRH e  $17\beta\text{-E}_2 + \text{P}_4$  foram tratadas para prevenir a ovulação de folículos persistentes no estro sincronizado, esperava-se um incremento nas taxas de concepção e prenhez em relação ao grupo Salina, o que não ocorreu.

Com emprego de protocolo semelhante ao grupo Salina Beal et al.<sup>27</sup> observaram taxa de concepção de 55%; enquanto Chenault et al.<sup>28</sup> obtiveram taxa de concepção de 51,2% e taxa de prenhez de 38,5%, taxas essas que se assemelham às obtidas no presente experimento. Mauck et al.<sup>25</sup> observaram uma taxa de concepção de 41,7% e uma taxa de prenhez de 32,4%, enquanto Kastelic et al.<sup>26</sup> verificaram taxas de concepção que variaram de 60 a 67% e taxas de prenhez entre 31% e 50%. Quando maiores taxas de prenhez foram relatadas pelos autores, havia também maior resposta em estros, pois consideraram um período de sincronização maior do que 120h, o que certamente pode ter contribuído para a obtenção dos melhores índices. Muitos trabalhos foram realizados utilizando uma injeção de GnRH 7 dias antes da administração de PG, sendo registradas taxas de concepção

e de prenhez bastante variáveis: Twagiramungu et al.<sup>12</sup> obtiveram, com esse tratamento, taxas de concepção que variaram de 64 a 85%, e taxas de prenhez entre 42,6% e 70,8%; Leblanc et al.<sup>32</sup> observaram uma taxa de concepção de 37,3%, e uma taxa de prenhez de 28,9% em um período de sincronização de sete dias, quando 78% das fêmeas apresentaram estros. Nestes estudos altas respostas em estros foram relatadas o que proporcionou maiores taxas de prenhez. Kastelic et al.<sup>26</sup> utilizaram protocolo semelhante ao grupo  $17\beta\text{-E}_2\text{+P}_4$  e observaram uma taxa de concepção de 80% e taxa de prenhez de 67%, embora apenas 12 novilhas tenham sido tratadas. Kastelic et al.<sup>18</sup> utilizaram este protocolo em novilhas e observaram uma taxa de concepção de 25% e uma taxa de prenhez de 20%. Garcia<sup>44</sup> administrou protocolo semelhante em novilhas de corte inseminando todas as fêmeas 60 horas após a aplicação de PG, e obteve taxas de prenhez que variaram de 14,9% a 29,2%. Barbuio et al.<sup>45</sup> trataram novilhas de corte com este mesmo protocolo e tentaram o emprego do benzoato de estradiol ou GnRH para sincronizar a ovulação. O benzoato foi aplicado 36 horas após a PG e a IA foi realizada 24 horas mais tarde. O GnRH foi aplicado 54 horas após a PG e a IA foi realizada 16 horas após. A taxa de prenhez para o grupo controle (não tratado para a sincronização da ovulação), benzoato de estradiol e GnRH não diferiram significativamente entre si ( $P \geq 0,05$ ) e foram respectivamente de 50,0%; 38,1% e 45,2%.

Os protocolos comerciais que empregam o Norgestomet (Syncro-Mate B e Crestar) ou a progesterona (PRID e CIDR) possibilitam um intervalo ao estro de aproximadamente 48h após a retirada dos implantes ou dispositivos. No presente estudo, no qual empregou-se o MGA, os intervalos aos estros para os diferentes grupos, foram em média, 24 horas mais longos do que quando são empregados a progesterona ou o Norgestomet. É provável que após a ingestão do MGA, este permaneça no rúmen e circulação por aproximadamente 24 horas, o que determinaria duas implicações

fundamentais. Primeiramente, este período precisa ser considerado para se estabelecer o momento adequado para a IA em tempo fixo; ressaltando ainda que o período de sincronização não teria sido de 120h após a PG e sim de 96h, período relativamente curto. No presente experimento, o momento escolhido para realizar as inseminações em tempo fixo foi o de 72h após a aplicação de PG e, portanto, 48h após o término do efeito do MGA. É possível que as inseminações tenham sido realizadas precocemente, resultando em taxas de prenhez não adequadas.

Um outro aspecto que merece consideração diz respeito à duração dos tratamentos com MGA. No presente experimento, o MGA foi administrado por 8 dias e portanto pode ter exercido efeito por 9 dias, considerando o período necessário para a metabolização e eliminação da droga. Assim sendo, é provável que a sincronização da onda folicular se perca ou que sejam formados folículos persistentes, porque da emergência até o final dos tratamentos há um intervalo de 5 a 6 dias, quando o ideal seria um intervalo de 4 a 5 dias. Segundo Fortune e Rivera<sup>46</sup>, um atraso de 24 a 48 horas na ovulação já seria suficiente para diminuir a viabilidade do oócito.

## Conclusões

Os resultados obtidos e analisados, segundo metodologia empregada, possibilitaram concluir que a associação de hCG, GnRH ou  $17\beta\text{-E}_2\text{+P}_4$  ao sistema MGA/PG não incrementou o grau de sincronização e não promoveu benefícios nas taxas de concepção e de prenhez. As características dos estros parecem depender dos hormônios utilizados para promovê-los.

## Agradecimentos

FAPESP, Frepal Salluti e Merial Saúde Animal Ltda.

## Use of hCG, GnRH or 17 $\beta$ -estradiol and progesterone associated with melengestrol acetate and prostaglandin F2 $\alpha$ in cross-bred heifers (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*)

### Abstract

Objectives of the present experiment were to evaluate the reproductive performance and estrus characteristics in cross-bred beef heifers (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*) treated with a MGA/prostaglandin (PG) protocol in association with other hormones. On day 0 (Day 0 = beginning of MGA intake), heifers were randomly allocated to receive 2mL saline solution (Saline group), 2500IU hCG (hCG group), 20 $\mu$ g buserelin acetate (GnRH group) or 5mg 17 $\beta$ -estradiol + 100mg progesterone (E<sub>2</sub>-17 $\beta$ +P<sub>4</sub> group). Blood samples were obtained at days - 7, 0, 7 and 10 to evaluate progesterone plasma concentrations. Heifers from all groups received 0,5mg MGA/animal/day from days 0 to 7 and PG (Day 7). Heifers were observed for heat for 120h using the "Heat-Watch" system, starting immediately after the PG injection. Heifers were inseminated 12 hours after observed heat or timed inseminated 72 hours after PG injection. Pregnancy diagnosis was performed 35 days after insemination by transrectal ultrasonography. Estrus response in each group was 50,0%, 22,2%, 59,5% and 71,8% for Saline, hCG, GnRH and E<sub>2</sub>-17 $\beta$ +P<sub>4</sub> groups respectively (P $\leq$ 0,01). Average interval from PG to estrus was 72,8  $\pm$  22,2, 102,0  $\pm$  22,7, 84,6  $\pm$  19,0 and 72,5  $\pm$  24,4 hours (P $\leq$ 0,01) and the degree of synchronization was similar among groups. Conception rates were 57,9%, 37,5%, 40,9% and 39,3%, and pregnancy rates were 29,0%, 11,1%, 27,0% and 28,2% respectively, for Saline, hCG, GnRH and E<sub>2</sub>-17 $\beta$ +P<sub>4</sub> groups. There was no treatment effect on estrus duration (10,4  $\pm$  5,7 hours), number of mounts (23,0  $\pm$  16,9), and duration of mounts (2,7  $\pm$  0,3 seconds). Values in parenthesis represent pooled mean  $\pm$  standard error for each variable. In conclusion, reproductive performance was not altered by adding hCG, GnRH or E<sub>2</sub>-17 $\beta$ +P<sub>4</sub> to the MGA/PG synchronization protocol.

### Key-words:

Estrus.  
Synchronization.  
Telemetry.  
Melengestrol acetate.  
Prostaglandins.

### Referências

- ZIMBELMAN, R. G. et al. Safety and pharmacologic evaluations of melengestrol acetate in cattle and other animals : a review. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 157, n. 11, p. 1528-1536, 1970.
- RAHE, C.H. et al. Patterns of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. **Endocrinology**, v. 107, n. 2, p. 498-503, 1980.
- WALTERS, D. L.; SHAMS, D.; SCHALLENBERG, E. Pulsatile secretion of gonadotrophins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the luteal phase of the oestrus cycle in the cow. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 71, n. 2, p. 479-491, 1984.
- KOJIMA, N. et al. Exogenous progesterone and progestins as used in estrous synchrony regimens do not mimic the corpus luteum in regulation of luteinizing hormone and 17 $\beta$ -estradiol in circulation of cows. **Biology of Reproduction**, v. 47, n. 6, p. 1009-1017, 1992.
- GUTHRIE, H. D. et al. Ovarian follicular changes in heifers treated with melengestrol acetate. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 22, n. 2, p. 363-364, 1970.
- MATTHEIJ, J. A. M. et al. Advancement of meiotic resumption in Graafian follicles by LH in relation to preovulatory ageing of rat oocytes. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 100, n. 1, p. 65-70, 1994.
- SCHMITT, E. J. P. 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 of Animal**

- Science, v. 74, n. 8, p. 1915-1929, 1996a.
- 8 SCHMITT, E. J. P. et al. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or na agonist of gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 5, p. 1074-1083, 1996b.
- 9 HARIADI, M.; BROOMFIELD, D.; WRIGHT, P. J. The synchrony of prostaglandin-induced estrus in cows was reduced by pretreatment with hCG. **Theriogenology**, v. 49, n. 5, p. 967-974, 1998.
- 10 TWAGIRAMUNGU, H. et al. Influence of agonist of gonadotropin-releasing hormone (buserelin) on estrus synchronization and fertility in beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 1904-1910, 1992.
- 11 TWAGIRAMUNGU, H. et al. Influence of corpus luteum and induced ovulation on ovarian follicular dynamics in postpartum cyclic cows treated with buserelin and cloprostenol. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 7, p. 1796-1805, 1994a.
- 12 TWAGIRAMUNGU, H. et al. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. **Theriogenology**, v. 38, n. 6, p. 1131-1144, 1992a.
- 13 TWAGIRAMUNGU, H. et al. Histological populations and atresia of ovarian follicles in postpartum cattle treated with na agonist of gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 1, p. 192-200, 1994 b.
- 14 PURSLEY, J. R.; MEE, M. O.; WILTBANK, M. C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 alpha and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-921, 1995.
- 15 PURSLEY, J. R. et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 2, p. 295-300, 1997.
- 16 BO, G. A. et al. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. **Theriogenology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 1995.
- 17 BO, G. A. et al. The effect of estradiol-17 $\beta$  on follicular growth and wave emergence in heifers. **Theriogenology**, v. 39, p. 190, 1993a. Abstracts.
- 18 KASTELIC, J. P. et al. Melengestrol acetate and estradiol-17 $\beta$  for synchronizing estrus and improving reproductive performance in beef cattle. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 77, n. 4, p. 683-688, 1997.
- 19 MURRAY, A. J. et al. Treatment with progesterone and 17 $\beta$ -oestradiol to induce emergence of a newly recruited dominant ovulatory follicle during oestrus synchronization with long-term use of Norgestomet in Brahman heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 50, n. 1-2, p. 11-26, 1998.
- 20 RICHARDS, M. W.; SPITZER, J. C.; WARNER, M. B. Effect of varying levels of postpartum nutrition and body condition at calving on subsequent reproductive performance in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 62, n. 2, p. 300-306, 1986.
- 21 STEVENSON, J. S. et al. Luteolysis during two stages of the estrous cycle: subsequent endocrine profiles associated with radiotelemetrically detected estrus in heifers. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 11, p. 2897-2903, 1998.
- 22 RAE, D. O. et al. Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers. **Theriogenology**, v. 51, n. 6, p. 1121-1132, 1999.
- 23 STATISTICA version 5.0, Copyright © Satsoft Inc 1984-1985.
- 24 SAS Institute. **SAS user's guide statistics 89**. Raleigh: SAS, 1989.
- 25 MAUCK, H. S. et al. Comparison of two MGA-PGF2 $\alpha$  systems for synchronization of estrus in beef heifers. **Theriogenology**, v. 42, n. 6, p. 951-961, 1994.
- 26 KASTELIC, J. P. et al. Estrus synchronization in cattle using estradiol, melengestrol acetate and PGF2 $\alpha$ . **Theriogenology**, v. 46, n. 7, p. 1295-1304, 1996.
- 27 BEAL, W. E. et al. Variation in conception rates following synchronization of estrus with melengestrol acetate and prostaglandin F2 $\alpha$ . **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 3, p. 599-602, 1988.
- 28 CHENAULT, J. R.; McLLISTER, J. F.; KASSON, C. W. Synchronization of estrus with melengestrol acetate and prostaglandin F2 $\alpha$  in beef and dairy heifers. **Journal of Animal Science**, v. 68, n. 2, p. 296-303, 1990.
- 29 THATCHER, W. W. et al. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 8, n. 2, p. 203-217, 1996.
- 30 STEVENSON, J. S. et al. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding system including OvSynch and combinations of Gonadotropin-Releasing Hormone and prostaglandin F2 $\alpha$ . **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 3, p. 506-515, 1999.
- 31 STEPHENS, L. A.; RAJAMAHENDRAN, R. A comparison of two estrus synchronization methods in beef heifers. **Canadian Journal of Animal Science**, Short Communication, v. 78, n. 3, p. 437-439, Sep. 1998.
- 32 LeBLANC, S. J. et al. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone within na estrus synchronization program based on prostaglandin F2 $\alpha$ . **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 2, p. 375-381, 1998.
- 33 ROCHA, J. L. Sistema "Heat-Watch" para controle do ciclo estral de novilhas de corte mestiças europeu x Nelore (*Bos taurus* x *Bos indicus*): sincronização

- hormonal do estro e das ondas foliculares. 2000. 130 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
- 34 THUNDATHIL, J. et al. Melengestrol acetate, estradiol 17 $\beta$  e GnRH for synchronization of estrus and ovulation in beef cows. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 79, n. 1, p. 39-43, 1999.
- 35 YELICH, J. V. et al. Persistence of the dominant follicle during melengestrol acetate administration and its regression by exogenous estrogen treatment in beef cattle. **Journal of Animal Science**, v. 75, n. 3, p. 745-754, 1997.
- 36 BROWN, L. N. et al. Comparison of melengestrol acetate-prostaglandin F2 $\alpha$  to Syncro-Mate B for estrus synchronization in beef heifers. **Theriogenology**, v. 30, n. 1, p. 1-12, 1988.
- 37 PATTERSON, D. J. et al. Conception rates in *Bos taurus* and *Bos indicus* crossbred heifers after postweaning energy manipulation and synchronization of estrus with melengestrol acetate and fenprostalene. **Journal of Animal Science**, v. 67, n. 5, p. 1138-1147, 1989.
- 38 STEVENSON, J. S. et al. Detection of estrus by visual observation and radiotelemetry in peripubertal, estrus-synchronized beef heifers. **Journal of Animal Science**, v. 74, n. 4, p. 729-735, 1996.
- 39 XU, Z. Z. et al. Estrus detection using radiotelemetry or visual observation and tail painting for dairy cows on pasture. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 11, p. 2890-2896, 1998.
- 40 PATTERSON, D. J.; CORAH, L. R. Evaluation of a megestrol acetate and prostaglandin F2 $\alpha$  system for the synchronization of estrus in beef heifers. **Theriogenology**, v. 38, n. 3, p. 441-447, 1992.
- 41 STEVENSON, J. S.; LUCY, M. C.; CALL, E. P. Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F2 $\alpha$ . **Theriogenology**, v. 28, n. 6, p. 937-946, 1987.
- 42 KASTELIC, J. P.; BERGEFELT, D. R.; GINTHER, O. J. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. **Theriogenology**, v. 33, n. 6, p. 1269-1278, 1990.
- 43 ROCHA, J. L.; MADUREIRA, E. H.; BARNABE, R. C. Características do estro e ovulação em novilhas de corte mestiças sincronizadas e em novilhas e vacas Nelore com estros naturais, detectadas através do sistema "Heat-Watch". **Rev. Bras. Reprod. Anim.**, v. 23, n. 3, p. 162-164, 1999.
- 44 GARCIA, A. G. **Utilização do sêmen resfriado e da administração de GnRH na inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore (*Bos taurus indicus*)**. 2000. 124 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2000.
- 45 BARBUIO, J. P. et al. Sincronização da ovulação por benzoato de estradiol ou GnRH após tratamento com MGA/PG/17 $\beta$ -estradiol + progesterona em novilhas nelore. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 23, n. 3, p. 312-314, 1999.
- 46 FORTUNE, J. E.; RIVERA, G. M. Folículo dominante persistente em bovinos: aspectos básicos aplicados. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, v. 27, n. 1, p. 22-34, 1999. Suplemento 27.