

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

IVAN DE PAULA FERNANDES

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MOMENTOS DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL NA PROPORÇÃO DE GÊNERO DA CRIA DE FÊMEAS DE
CORTE SINCRONIZADAS**

ILHÉUS – BAHIA

2015

IVAN DE PAULA FERNANDES

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MOMENTOS DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL NA PROPORÇÃO DE GÊNERO DA CRIA DE FÊMEAS DE
CORTE SINCRONIZADAS**

Dissertação apresentada à
Universidade Estadual de
Santa Cruz, como parte das
exigências para obtenção do
título de Mestre em Ciência
Animal

Área de concentração:
Produção e Comportamento
Animal

Orientador: Profa. Dra. Paola
Pereira das Neves Snoeck

ILHÉUS – BAHIA

2015

IVAN DE PAULA FERNANDES

**INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MOMENTOS DA INSEMINAÇÃO
ARTIFICIAL NA PROPORÇÃO DE GÊNERO DA CRIA DE FÊMEAS DE
CORTE SINCRONIZADAS**

Ilhéus-BA 30/11/2015

Paola Pereira das Neves Snoeck – Dsc
UESC - DCAA
(Orientadora)

Caio Tácito Gomes Álvares - Dsc
UESC - DCAA

Antônio de Lisboa Ribeiro Filho - Dsc
UFBA

ILHÉUS-BAHIA

2015

DEDICATÓRIA

Dedico a toda a natureza e especialmente aos animais, por permitirem conseguir através deles meu sustento e constantes ensinamentos.

“Todos os seres são iguais, pela sua origem,
seus direitos naturais e divinos e seu objetivo final.”

Francisco de Assis

“Senhor, dai-me força para mudar o que pode ser mudado...
Resignação para aceitar o que não pode ser mudado...
E sabedoria para distinguir uma coisa da outra.”

Francisco de Assis

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus e toda a força Divina que move o mundo,
permitindo que possamos navegar pela vida.

Especialmente a minha mãe, que muito foi pai, mas muito mais foi Mãe e
sempre acreditou em mim, muito mais do que eu mesmo.

Ao meu primeiro pai, que deixou essa vida, mas não antes de me
ensinar a amar o campo, os bovinos e minha profissão.

Ao meu segundo pai, Zequinha que acolheu minha família com tanto
amor que me fez entender os motivos de Deus ter levado meu primeiro pai.
Tenho grande privilégio por conviver e ter convivido com esse homem.

A minha filha, minha Flor, minha poesia, meus mais puros sorrisos e
minha motivação pra mudar tudo em mim. Mesmo distante seu sorriso em
minha parede ou sua voz no telefone me fazem querer ser melhor todo dia.

Minha outra preciosidade, meu grande orgulho, meu exemplo de
dedicação, comprometimento, responsabilidade, e grande força na fragilidade
de minha irmã Nininha.

A Fabíola que foi tão companheira na maior parte desse período, que
me incentivou, me deu amor e apoio sempre e nunca será esquecida.

A minha professora, orientadora e incentivadora Paola que sempre foi
tão paciente comigo, até quando eu não merecia.

A todo pessoal da que tive o prazer de conhecer na UESC, colegas e
professores do PPGCA, sempre dispostos a trocar ideias construtivas.

Aos do grupo de pesquisa, às amizades construídas, Dani, Lari, Cris e Maíra, especialmente Tainá e João Fillipe que durante o projeto me deram uma força daquelas.

Agradeço aos parceiros das fazendas: Tonhão, André Fontes, Jaymilton Gusmão, por ceder os animais, instalações e confiar no trabalho, especialmente Danilo, parceiro e amigo que me deu todo suporte.

Aos funcionários Biloró, Silvio, Dinho, Naldo, Gil, Flor, Guina e Neto que sem eles nada disso teria acontecido, trabalhando no curral até tarde da noite e novamente na manhã seguinte.

Ao amigo Gustavo e a equipe Alta Genetics pelo sêmen prontamente cedido e apoio nesse período em Itabuna.

Por fim aos amigos da “muriçocas” e meu primo/compadre Paulo Júnior que me abrigaram em Itabuna e tornaram tudo mais fácil.

Muito obrigado a todos

INFLUÊNCIA DE DIFERENTES MOMENTOS DA INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL NA PROPORÇÃO DE GÊNERO DA CRIA DE FÊMEAS DE CORTE SINCRONIZADAS

RESUMO

A busca dos pecuaristas por aumentar a utilização da Inseminação Artificial (IA) e a possibilidade de direcionar o sexo da cria, associado a baixos índices do sêmen sexado, tem levado as pesquisas que relacionam o intervalo entre a IA e a ovulação como fator capaz de influenciar na proporção do sexo. Neste trabalho foram sincronizadas 469 fêmeas zebuínas de corte com protocolo à base de progesterona, eCG e estradiol, sendo 182 nulíparas e 287 pluríparas, alocadas aleatoriamente em três grupos experimentais com diferentes horários de inseminação artificial: G42 animais inseminados 42 horas após a remoção do implante de progesterona, G54 e G66 inseminados a 54 e 66 horas respectivamente. Os animais foram marcados com tinta no momento da indução da ovulação para analisar intensidade de aceitação de monta e influência nas taxas de concepção, foram classificados como apresentando estro fraco, médio ou forte no momento da IA. Para avaliar a dinâmica folicular 12 nulíparas e 20 pluríparas foram mantidas nas mesmas condições e sincronizadas da mesma forma e tiveram o diâmetro folicular avaliado às 24, 42, 54, 66, 72 e 80 horas após a remoção do dispositivo de progesterona. A média de diâmetro do folículo ovulatório não diferiu entre as categorias ($12,38 \pm 0,99$ mm nas novilhas e $12,74 \pm 0,91$ mm nas vacas), bem como a taxa de ovulação (75% para novilhas e 85% para as vacas), enquanto que o momento de ovulação foi mais precoce nas nulíparas ($65,33 \pm 4,69$ horas) que nas pluríparas ($71,06 \pm 3,47$ horas). As taxas de concepção diferiram entre as categorias, mas não entre os tratamentos resultando em 33% e 48% no G42, 34% e 47% no G54 e finalmente 28% e 45% no G66 para novilhas e vacas respectivamente, demonstrando maleabilidade no momento de inseminação após sincronização. As taxas de concepção também foram influenciadas pela intensidade de aceitação de estro, em que apenas um

animal com aceitação fraca apresentou concepção positiva na soma dos grupos 54 e 66 horas. Nenhum dos fatores teve ação sobre a proporção de gênero. Portanto não foi comprovada relação entre o momento de inseminação e a probabilidade de alteração no sexo da prole de fêmeas zebuínas.

Palavras-chave: Sexagem. Sincronização de cio. *Bos indicus*. Zebuínos. IATF.

EFFECT OF DIFFERENTS INSEMINATION TIME IN THE SEX RATIO OF BEEF CATTLE SYNCHRONIZED

ABSTRACT

The search for ranchers to increase the use of artificial insemination (AI) and the possibility to direct the sex ratio, associated with low rates of sexed semen has led the research to link the interval between AI and ovulation as a capable factor influence the sex ratio. In this work, a total of 469 Zebu females (182 heifers and 287 cows) were synchronized with progesterone-based protocol, eCG and estradiol, randomly assigned to three experimental groups with different schedules artificial insemination: G42 animals inseminated 42 hours after removing the progesterone device, G54 and G66 inseminated at 54 and 66 hours respectively after removing the progesterone device. The animals were marked with ink at the time of ovulation induction to analyze intensity of accepting rides and influence in the conception rates were classified as having estrus weak, medium or strong at the time of AI. To assess follicular dynamics 20 cows and 12 heifers were maintained in the same conditions and in the same manner synchronized follicular diameter and were evaluated at 24, 42, 54, 66, 72 and 80 hours after removal of progesterone device. The average diameter of the ovulatory follicle did not differ between the categories (12.38 ± 0.99 mm in heifers and 12.74 ± 0.91 mm in cows) as well as the ovulation rate (75% for heifers and 85% for cows), whereas the ovulation time were earlier in heifers (65.33 ± 4.69 hours) than in cows (71.06 ± 3.47 hours). Conception rates had differed between females categories but not between treatments resulting in 33% and 48% in the G42, 34% and 47% in the G54 and 28% and 45% in the G66 for heifers and cows respectively, demonstrating flexibility for the insemination time after synchronization. Conception rates were also influenced by the intensity of acceptance of estrus, where only one female with a weak sign of estrus showed a positive conception after the sum of the groups 54 and 66 hours. None of the studied factors had effect on the proportion of

gender. So there was no proven link between the time of zebu artificial insemination and the likelihood of change of sex ratio.

Keywords: Sexing. Estrus synchronization. Bos indicus. Zebu. AIFT.

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1: Marcação para avaliação do comportamento de aceitação de monta.....	28
Figura 2: Avaliação dos níveis de aceitação de monta realizados no momento da inseminação	29
Figura 3: Frequência absoluta da ovulação.....	32
Figura 4: Momento da Ovulação (números absolutos/ categoria).....	33
Figura 5: Intensidade de aceitação de monta: Novilhas.....	34
Figura 6: Intensidade de aceitação de monta: Vacas.....	34
Figura 7: Propabilidade de Concepção de acordo com Tratamento e comportamento de estro.....	36
Figura 8: Taxa de concepção de acordo com o momento da inseminação (42, 54 ou 66 h após a remoção do implante).....	37
Figura 9: Proporção de gênero da cria de novilhas.....	39
Figura 10: Proporção de gênero da cria de vacas.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1: Protocolo de sincronização de cio e indução da ovulação utilizado para IATF.....	25
Tabela 2: Grupos experimentais.....	26
Tabela 3: Análise subjetiva do Sêmen.....	27
Tabela 4: Avaliação de aceitação de monta.....	28
Tabela 5: Relação de Chances de um animal apresentar concepção positiva de acordo com o tratamento e a aceitação de monta.....	35
Tabela 6: Intervalo entre o momento da IA e o momento médio da ovulação (MOV) por tratamento em cada categoria.....	38

SUMÁRIO

	Pág
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	2
3 REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1 Inseminação Artificial	3
3.2 Dinâmica folicular	4
3.3 Sincronização do ciclo estral	7
3.3.1 Sincronização com prostaglandina	8
3.3.2 Associação de GnRH com Prostaglandina (Ovsynch)	9
3.3.3 Sincronização com progesterona ou progestágeno	12
3.3.4 Efeito do ECG em protocolos de IATF.....	14
3.4 Peculiaridades de categorias.....	17
3.6 Proporção de gênero da cria.....	20
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
4.1 Animais.....	23
4.2 Local.....	24
4.3 Sincronização de estro.....	25
4.4 Dinâmica folicular.....	25
4.5 Tratamentos.....	26
4.6 Avaliação de aceitação de monta.....	27
4.7 Diagnóstico de gestação e sexo fetal.....	29
4.8 Análises Estatísticas	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5.1 Dinâmica Folicular.....	31
5.2 Intensidade do comportamento de imobilidade perante a monta.....	33
5.3 Taxas de concepção.....	36
5.4 Proporção de gênero.....	38
6 CONCLUSÕES.....	41

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura brasileira se apresenta cada vez mais desafiadora para o produtor. A desvalorização da moeda nacional e a redução na oferta de boi gordo (IMEA, 2015) indicam manutenção de preços elevados da arroba do boi, diante deste cenário e do crescente custo de produção é cada vez mais necessário a adoção de tecnologias que aumentem a eficiência, tornando-se fundamental aumentar a taxa de desfrute das propriedades. Dentre os fatores mais importantes para isso estão: o aumento da eficiência reprodutiva, a utilização de animais com genética superior além de um adequado manejo nutricional e sanitário (GODOY et al., 2004). Várias tecnologias podem ser utilizadas visando melhorar a eficiência reprodutiva e a propagação de genética melhoradora, com destaque principalmente para a Inseminação Artificial (IA), pela maior facilidade de implantação e pela grande distribuição mundial, com inegável importância para o melhoramento genético animal.

Apesar da relativa praticidade e conhecimento a respeito da técnica apenas 11,9% das fêmeas em idade reprodutiva são inseminadas artificialmente no Brasil (ASBIA, 2014), número que vem crescendo nos últimos anos graças a popularização da Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), técnica que dispensa a observação de estro. Sinal de que a detecção do estro ainda é uma das principais causas de rejeição por parte de pecuaristas à técnica de IA, isso se dá principalmente pela grande proporção do rebanho de corte nacional ser composto por zebuínos ou suas cruzas (RIBEIRO FILHO et al., 2002), animais que apresentam mais dificuldades para a observação do estro, devido a um estro mais curto (BÓ et al., 2003) e uma maior frequência no período noturno (PINHEIRO et al., 1998).

Os protocolos para IATF mais utilizados atualmente associam progesterona, prostaglandina, gonadotrofina coriônica equina e estrógenos. As associações feitas com estes hormônios visam aumentar a fertilidade do estro induzido e a precisão do momento da ovulação. De uma forma geral os protocolos com estes fármacos apresentam resultados satisfatórios em vacas de corte (BARUSELLI et al., 2008), porém a variação nos índices encontrados em novilhas zebuínas ainda representam um desafio para os pesquisados (BARUSELLI et al., 2004a).

Outra demanda crescente dos pecuaristas é pelo direcionamento do sexo da cria, não só na bovinocultura de leite, que busca um maior nascimento de produtos do sexo feminino, como também na de corte que valoriza mais o produto macho, principalmente em sistemas que buscam a terminação em confinamento e a possibilidade de produzir mais carne por hectare. A manipulação da proporção de sexo é um fator que pode aumentar sensivelmente a eficiência de programas de melhoramento genético (SEIDEL JR, 2003).

Por conta dessa demanda a utilização de sêmen sexado é cada vez mais freqüente, porém essa tecnologia ainda apresenta limitações, principalmente no tocante a fertilidade e custo da dose inseminante para programas de IATF, o que reflete diretamente no custo do bezerro produzido, ficando muitas vezes inviável para a pecuária de cria comercial. As limitações e custos da utilização de sêmen sexado levaram a algumas pesquisas em busca de alternativas mais econômicas para manipular a proporção de gênero da prole de bovinos, a maioria delas direcionadas para a relação do intervalo entre inseminação e ovulação com a probabilidade de fecundação pelo espermatozóide com o cromossomo x ou y, teorizando que a diferença de densidade e peso entre eles poderia alterar a velocidade cinética, longevidade e assim alterar a proporção de sexo da cria.

As pesquisas nesse sentido são controversas, em sua maioria realizada com rebanho taurino e com IA após observação do estro, o que não se aplica a principal realidade de rebanhos de corte brasileiros, que utilizam fêmeas zebuínas inseminadas em tempo fixo após sincronização.

2 OBJETIVOS

A pesquisa foi realizada com o objetivo estudar a influência do momento da inseminação e conseqüente distância da mesma para o momento de ovulação na proporção do gênero da cria, além de possível efeito nas taxas de concepção de vacas e novilhas zebuínas de corte sincronizadas para programa de IATF. Outro ponto avaliado foi a influência da intensidade do comportamento de aceitação de monta nos índices de fertilidade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Inseminação Artificial

A inseminação artificial (IA) é a técnica que consiste em depositar o sêmen retirado do macho no sistema genital da fêmea, utilizando material adequado, objetivando a fecundação (VASCONCELLOS, 1990). Representa a técnica mais importante para o melhoramento animal, pela facilidade e enorme potencial de difusão de machos de alto valor genético (AX et al., 2004). Baruselli et al. (2004a) também destaca o melhoramento genético como a principal vantagem de se realizar a IA.

O primeiro relato de IA bem sucedida foi realizado por Spallanzani no ano de 1780 em cães. Desde então a técnica cresceu e se difundiu por todo o mundo, principalmente com o objetivo de controlar doenças sexualmente transmissíveis. Além disso, o uso de técnicas eficientes de criopreservação espermática impulsionou a utilização da IA com motivação econômica (Verberckmoes et al., 2004).

As grandes limitações para a difusão da IA são as falhas na detecção do estro e o grau de anestro pós-parto dos rebanhos comerciais de corte (BARUSELLI et al., 2004a). Bó et al. (2002) relataram que mesmo observadores treinados só conseguem observar 50% dos animais em estro quando fazem duas observações por dia, o índice melhora quando associado ao burçal marcador e só se aproxima de 90% quando a observação é realizada 24 horas por dia, o que é operacionalmente inviável.

Estas dificuldades são ainda maiores em rebanhos zebuínos, que apresentam mais frequentemente estro de curta duração e noturnos, dentre outras peculiaridades (PINHEIRO et al., 1998). Mizuta et al. (2003) confirmam essas diferenças quando percebem que a manifestação do estro de Nelore e cruzas Nelore x Angus duram em média até quatro horas a menos que a manifestação da fêmea Angus (12,9h nas zebuínas; 12,4h nas mestiças contra 16,3h nas taurinas).

Diante destas dificuldades de manejo e do interesse no ganho genético que a IA possibilita, a utilização de terapia hormonal para sincronização do ciclo estral das fêmeas bovinas vem crescendo, uma vez que os protocolos

estão apresentando resultados satisfatórios e incrementando melhores índices reprodutivos aos sistemas de produção (MADUREIRA et al., 2002).

Diante de um animal em estro, adequar o momento para a inseminação é fundamental para o sucesso da técnica. Alguns fatores são importantes para a determinação deste momento, principalmente identificar o momento da ovulação e conhecer o tempo de vida fértil de ambos os gametas no trato genital (RAIMUNDO, 2014). Roelofs et al. (2006) encontraram melhores índices nas inseminações realizadas entre 24 e 12 horas antes da ovulação, esses dados coincidem com o trabalho Andrade et al. (2012) que não encontraram diferenças nas taxas de concepção de fêmeas Nelore sincronizadas e inseminadas entre 14 e 24 horas antes da ovulação.

A identificação do momento da ovulação é complicada no campo, o que torna importante a correlação entre o momento de ovulação e o início do comportamento de estro. Fêmeas zebuínas ou taurinas apresentam ovulação entre 25 e 30 horas após o início do estro (LAMOTHE-ZAVALETA et al., 1991; BARROS et al., 1995; PINHEIRO et al., 1998). O trabalho realizado por Trimberger (1948) que constatou melhores índices de prenhez quando as inseminações eram realizadas de 12 a 24 horas após o início do estro baseia até hoje os protocolos mais utilizados para observação de estro. Inseminar no período da tarde o animal observado aceitando monta na manhã do mesmo dia e inseminar pela manhã o animal observado em estro na tarde do dia anterior. Maatje et al. (1997) recomendam que as inseminações sejam realizadas com uma menor janela de tempo, encontrando melhores índices nas inseminações realizadas entre seis e 17 horas após o início do estro do que nos animais inseminados 24 horas após a aceitação de monta, de toda forma a literatura recomenda que inseminações realizadas em torno de 12 horas após o início do estro coincide com a janela entre 12 e 24 horas antes da ovulação, representando os melhores índices de concepção.

3.2 Dinâmica Folicular

Dinâmica ovariana é uma denominação que engloba toda atividade dos folículos presentes nos ovários, desde o recrutamento inicial até a saída irreversível destes, seja por atresia folicular ou pela ovulação seguida de

luteinização (BINELLI et al. 2009). Este crescimento de folículos acontece de forma contínua e cíclica nas fêmeas bovinas e é denominado onda de crescimento folicular (ROCHE e BOLAND, 1991). As ondas de crescimento folicular podem ser subdivididas em fases de recrutamento, seleção e dominância, e finalmente fase de ovulação ou atresia do folículo ovulatório (LUCY et al., 2014). O período entre duas ovulações é denominado de ciclo estral e tem intervalo médio de 21 dias na espécie bovina.

Segundo Sirois e Fortune (1988) em cada ciclo completo observam-se de duas a quatro ondas de crescimento folicular, sendo pouco freqüente a ocorrência de quatro ondas. O número de ondas em um ciclo é determinado pela duração da fase luteal, em animais que apresentam duas ondas o corpo lúteo começa sua regressão por volta do 16º dia, resultando em ciclos com media entre 19 e 20 dias, já animais que apresentam três ondas tem essa regressão mais tardia, em torno do 19º dia, completando ciclos mais longos, entre 22 e 23 dias. (FORTUNE et al., 1991).

Wiltbank et al. (2002) relataram que cada onda varia de 6 a 15 dias, sendo mais comum de 10 dias em vacas taurinas, enquanto zebuínas tem ondas mais curtas. A primeira onda se inicia já no dia da ovulação, que é comumente chamado de dia 0, em ciclos de duas ondas a segunda emergência acontece geralmente no 9º ou 10º dia, já em animais com ciclo de três ondas a segunda e terceira iniciam, respectivamente nos dias 8 ou 9 e 15 ou 16 (AERTS e BOLS, 2010).

Em um determinado estágio de crescimento do maior folículo, o mecanismo da divergência promove ações contra os folículos menores bloqueando seu desenvolvimento (GINTHER et al., 2003). Essa divergência se consolida diante de um processo denominado seleção, que permite o desenvolvimento de um único folículo, para que este sofra maturação até a ovulação (BARUSELLI et al., 2007). A capacidade de um folículo suprimir o crescimento dos demais e inibir o recrutamento de uma nova onda é chamada de dominância (BARUSELLI et al., 1997). Antes da seleção e divergência, todos os folículos têm a capacidade de se tornarem folículos ovulatórios, depois dessa fase, o maior folículo se desenvolve enquanto que os outros folículos regridem, as gonadotrofinas hipofisárias são as responsáveis pela regulação destes processos (AERTS e BOLS, 2010), Martins et al. (2008)

relataram a importância de hormônios somatotróficos e de fatores de crescimento internos que também agem direta e indiretamente no processo.

A regressão ou ovulação do folículo dominante e conseqüente diminuição dos níveis de hormônios sintetizados por este, causa um aumento temporário na secreção de FSH (Hormônio Folículo Estimulante) pela hipófise e a elevação dos níveis séricos deste hormônio é o principal fator responsável pelo recrutamento para a próxima onda folicular (AERTS e BOLS, 2010). O recrutamento folicular é um processo dinâmico, conceituado pelo início do processo de desenvolvimento e maturação de um grupo de folículos antrais com aproximadamente quatro mm de diâmetro (ADAMS et al., 1992).

Os hormônios gonadotróficos LH (Hormônio Luteinizante) e FSH são ambos de natureza glicoproteica, produzidos e secretados pela hipófise anterior (BROWN e MCNEILLY, 1999). Possuem diferentes formas de liberação, o LH é liberado de forma pulsátil, enquanto que o FSH é secretado em sua maioria na mesma freqüência que é produzido, havendo possibilidade de armazenamento de uma pequena quantidade a ser liberada em resposta ao GnRH (Hormônio Regulador de Gonadotrofinas; FARNWORTH, 1995).

O FSH é crucial para a função folicular, atua principalmente nas células da granulosa gerando diversas reações, dentre elas a síntese de esteróides, multiplicação celular e incremento de receptores para o LH, sendo responsável inclusive pela formação do antro e desenvolvimento folicular (MARTINS et al. 2008). Porém após a diferenciação o próprio folículo desenvolve um mecanismo antagonista ao FSH, prejudicando o crescimento dos folículos menores, enquanto que o dominante continua seu crescimento mesmo em níveis basais desta gonadotrofina (AERTS e BOLS, 2010).

Segundo Mihm et al. (2006) o folículo em dominância passa ser mais dependente de LH que de FSH, essas alterações ocorrem no início do processo de divergência. Os principais produtos foliculares responsáveis pela supressão do FSH são a Inibina nos primeiros momentos de crescimento da onda folicular, e posteriormente o Estradiol, quando passa a ser produzido em altos níveis pelo folículo dominante (MELO et al., 2010). O LH e a Inibina também estimulam a produção de andrógenos pelas células da teca, que são os precursores do Estradiol, assim, forma-se um ciclo de estímulo em que um folículo irá se desenvolver até se tornar pré-ovulatório (Driancourt, 2001).

Os receptores de LH surgem em folículos com aproximadamente oito milímetros em bovinos (AERTS e BOLS, 2010). Quanto maior vai ficando o folículo, maior é sua produção de Estradiol, até que esse Estradiol circulante estimule a manifestação do comportamento de Estro. Os folículos dominantes chegam a atingir tamanhos de até 15 a 20 mm em vacas e ovulam diante da influência do pico pré-ovulatório de LH (Van DenHurk e Zhao, 2005). Ginther et al. (1989) avaliando nulíparas encontraram folículos ovulatórios com tamanho médio de 16,5 mm em animais que apresentaram duas ondas de crescimento folicular e 13,9 mm em animais com três ondas foliculares. Townson et al. (2002) sugerem que oócitos liberados em ovulações de terceira onda são mais férteis do que os vindos de segunda onda, pois estes últimos são maiores e mais velhos.

Após a ovulação, sob o efeito do LH, as células foliculares remanescentes dão origem ao Corpo Lúteo (CL), que é o produtor da Progesterona (P4). Os níveis de Progesterona vão aumentando à medida que o CL cresce, sendo necessária concentração acima de 1 ng/mL na corrente sanguínea para inibir um novo pico de LH (e conseqüente nova ovulação), permitir o desenvolvimento do embrião e a manutenção da eventual prenhez. Em caso de não fecundação do oócito, mecanismos uterinos que regulam a liberação de prostaglandina F2 α (PGF) promovem a regressão do Corpo Lúteo, queda nos níveis de Progesterona e continuidade ao ciclo ovariano (WILTBANK et al., 2002).

Com a popularização da ultrassonografia e os conhecimentos de biologia molecular para elucidar melhor a atividade ovariana e os mecanismos de ovulação, se tornou viável a utilização em grande escala do controle hormonal do ciclo estral (NEVES et al., 2010).

3.3 Sincronização do ciclo estral

A sincronização do ciclo estral é realizada através da utilização de substâncias químicas (hormônios ou análogos) que permitem manipular o ciclo da fêmea (MAPLETOFT et al., 2000). Os principais objetivos da sincronização são: viabilizar ou potencializar a utilização da inseminação artificial e

proporcionar uma concentração das concepções e partos. Animais que têm o parto no início da estação apresentam menor período de serviço e intervalo de partos, conseqüentemente maior eficiência reprodutiva (BARUSELLI et al., 2004), além de que o mês de nascimento dos bezerros influencia diretamente o peso à desmama (VASCONCELOS et al., 2007), permitindo maiores resultados econômicos para a propriedade.

Existem critérios importantes para a escolha do tipo de sincronização a ser utilizado, tais como: categoria animal, estágio fisiológico, condição de ciclicidade entre outros pontos críticos que devem ser respeitados em cada situação para a obtenção de resultados consistentes e com boa repetibilidade nas diversas situações (SIQUEIRA *et al.*, 2008). Somente com uma técnica de sincronização eficiente é possível estabelecer um programa viável de inseminação artificial em tempo fixo.

As principais classes de terapêuticos utilizados para sincronização são as prostaglandinas e os progestágenos, o principal critério de escolha deve ser a ciclicidade do rebanho, uma vez que a progesterona pode estimular a saída dos animais de um eventual anestro, ao contrário da prostaglandina que só funciona em animais cíclicos (VALLE, 1991).

3.3.1 Sincronização com prostaglandinas

Os primeiros protocolos de sincronização consistiam na retirada do corpo lúteo após aplicação de prostaglandina para alteração do ciclo estral (LAMB, 2004). A prostaglandina ainda é o fármaco mais utilizado para sincronização do estro de vacas em todo o mundo (ODDE, 1990), entretanto, existe variação de três a sete dias no intervalo entre a aplicação e a ovulação (AYRES et al., 2006; BORGES, 2007). Sendo assim, esse protocolo não dispensa a observação de cio, pois não há uma sincronização precisa do momento da ovulação, que vai depender da situação do folículo dominante e dos animais apresentarem corpo lúteo funcional (BÓ, 2000; SILVA, 2002). Portanto o ideal para iniciar um processo de sincronização com prostaglandina seria avaliar a situação ovariana por palpação retal ou ultrassonografia (MORAES et al., 2002).

Segundo Madureira e Barufi (2000) a maior vantagem deste esquema é justamente a realização desta prévia avaliação reprodutiva de todas as fêmeas do rebanho, com a possibilidade de identificar animais com patologias reprodutivas ou em anestro. Isso permite que o técnico interfira no manejo das fêmeas, exclua animais do programa ou escolha a técnica mais adequada de sincronização, de modo a antecipar o retorno da atividade cíclica.

A forma mais comumente utilizada de sincronização com prostaglandina é a de duas aplicações com intervalo entre 11 e 14 dias, sem a avaliação prévia da presença de CL. A IA pode ser realizada nas fêmeas que responderam com apresentação de cio após a primeira aplicação, resultando em economia por não se fazer uso da segunda dose nesses animais, ou esperar para inseminar todo o grupo após a segunda aplicação, concentrando maior quantidade de fêmeas em cio. Todas as fêmeas cíclicas do rebanho deverão responder à segunda aplicação de prostaglandina, independente da fase do ciclo estral que se encontram, tendo em vista que receberam a primeira dose. Uma das vantagens de concentrar um maior lote de fêmeas seria facilitar o manejo de observação de cio (VALLE, 1991).

O uso da aplicação de duas doses de prostaglandina para induzir o estro e a ovulação é muito interessante, principalmente pelo baixo custo do fármaco. As fêmeas identificadas em estro devem ser inseminadas da forma convencional, 12 horas após a observação, como proposto por Trimberger (1948). Alguns autores avaliaram a possibilidade de inseminar as fêmeas em tempo fixo uma ou duas vezes, entre 72 e 96 horas após a segunda aplicação do hormônio e não conseguiram resultados confiáveis, confirmando a necessidade de observação de cio neste protocolo (VALLE, 1991).

3.3.2 Associação de GnRH com Prostaglandina (Ovsynch)

Com intuito de permitir uma adequada sincronização do estro e da ovulação para realização da inseminação artificial em tempo fixo (IATF) foi desenvolvido o protocolo denominado Ovsynch, que consiste num tratamento prévio com hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) associado a aplicação de prostaglandina. A sincronicidade da ovulação aumenta em mais de 90% se for administrada uma segunda injeção de GnRH entre 36 e 48 horas

após a prostaglandina. A inseminação realizada entre 16 e 24 horas após a segunda injeção do GnRH mostrou taxas de prenhez semelhantes às encontradas na observação de estro tradicional (PURSLEY et al., 1995).

O protocolo Ovsynch, criado nos anos 90 nos EUA, foi um dos primeiros desenvolvidos para IATF com razoável taxa de prenhez em taurinos. Nos EUA e na Europa ainda é bastante utilizado devido à restrição do uso de estrógenos nessas regiões (AYRES et al., 2006). Porém, Baruselli et al. (2002) encontraram menor eficiência do Ovsynch em vacas zebuínas lactantes quando comparado ao protocolo sem sincronização e IA convencional e aos protocolos utilizando progesterona, . Por isso, não indica a escolha do Ovsynch nesta categoria animal.

A primeira aplicação do GnRH, objetiva a ovulação de um possível folículo dominante, o que daria origem a uma nova onda folicular dois dias depois (PURSLEY et al., 1995). Havendo esta ovulação, forma-se um CL que vai produzir progesterona (BARUSELLI et al., 2003). Sete dias depois da primeira aplicação de GnRH ou cinco dias depois da ovulação, o CL formado é responsivo a PGF, podendo ser lisado e permitir uma nova ovulação sincronizada por meio da aplicação da segunda dose de GnRH que ocorre, 48 horas após a aplicação de prostaglandina. Os animais deverão ser inseminados entre 16 e 24 horas após a segunda aplicação de GnRH, sem necessidade de observação de cio (WILTBANK e PURSLEY, 2014). Em resumo o Ovsynch é um protocolo de IATF, que consiste em duas aplicações de GnRH com intervalo de nove dias entre as duas, e uma aplicação de prostaglandina 48 horas antes da segunda aplicação de GnRH (ALVAREZ et al., 1999).

O principal problema deste protocolo está no fato de não se saber a fase do ciclo estral da fêmea no início do tratamento. Sendo que a capacidade de induzir luteinização e ovulação do GnRH depende do estágio do desenvolvimento folicular no momento da aplicação, podendo haver prejuízos na sincronização da emergência de uma nova onda, reduzindo a eficiência de todo o processo, além da possibilidade do CL não estar responsivo a prostaglandina no momento da sua administração, seja pela não ovulação inicial ou por uma ovulação tardia (ALVAREZ et al., 2003).

Os trabalhos realizados com Ovsynch no Brasil apresentam resultados bastante diversos. Barros et al. (2000) encontraram taxas de prenhez de 47,7% em vacas lactantes e 44,9% em não lactantes, por sua vez Alvarez et al. (2003) relataram taxa de prenhez variando entre 21,7% e 44,4% em vacas leiteiras em lactação, enquanto que Wiltbank e Pursley (2014) apresentaram 30% como taxa média de concepção.

O Protocolo Ovsynch também não tem eficácia em situação de anestro, devendo ser utilizado apenas em rebanhos que a maioria dos animais apresentem ciclicidade, o que nem sempre é encontrado em regiões tropicais (BÓ et al., 2004). Fernandes et al. (2001) encontraram taxa de prenhez de apenas 15% em fêmeas sincronizados quando estavam em anestro comparado a 46% quando estavam cíclicas próximo do encontrado por Pancarci et al., (2002) que foi de 22% e 42%, respectivamente para os dois grupos. Estes últimos autores destacaram que a falta de progesterona das vacas em anestro prejudica o desenvolvimento do folículo ovulatório e afeta a composição do líquido folicular, aumentando assim a responsividade do endométrio para liberação de PGF, o que acaba aumentando o risco de ciclos curtos (CERRI et al., 2008).

Outro fator que leva a uma grande variação dos resultados do protocolo Ovsynch é a categoria animal, o mesmo não apresenta resultados satisfatórios para novilhas, principalmente devido a uma menor duração das ondas foliculares (PURSLEY et al., 1997). Ribeiro et al. (2001) encontraram taxas de concepção entre 6,2% a 35,7% em novilhas. Soto Belloso et al. (2002) relataram que novilha é a categoria que apresenta menor resposta ao protocolo OvSynch.

Algumas estratégias vêm sendo estudadas para melhorar as taxas de prenhez com uso do protocolo Ovsynch, utilizando uma pré-sincronização com prostaglandina antes do Ovsynch (chamado também de pré-synch-Ovsynch). Essa pré-sincronização resultou em aumento da taxa de prenhez de até 43%, porém acarretou em um maior número de manejo e maior tempo entre o início do protocolo e a IA (PANCARCI et al., 2002).

3.3.3 Sincronização com progesterona ou progestágeno

Os conhecimentos sobre os efeitos da progesterona na dinâmica folicular levaram a expansão de pesquisas com sua utilização como base dos protocolos de sincronização, principalmente para estimular uma nova onda folicular no início da sincronização através da atresia dos folículos já existentes (MADUREIRA, 2000).

Sá Filho (2012) relatou três pontos cruciais para montar um protocolo de sincronização eficiente para IATF: 1) sincronização da emergência de uma nova onda de crescimento folicular; 2) controle da fase progestacional e 3) sincronização de forma eficiente da indução da ovulação do folículo dominante no final do tratamento. Enquanto que Madureira e Maturana Filho (2012) relataram a importância de quatro etapas para uma IATF eficiente com boas taxas de prenhez: 1) simular a fase luteínica do ciclo estral mantendo as fêmeas por 7 a 10 dias expostas à progesterona; 2) encerrar a fase progestacional de forma sincronizada seja pela aplicação de prostaglandina ou retirada da fonte de P4; 3) Garantir que existam folículos com capacidade ovulatória no momento da queda da progesterona para responder ao pico de LH e ovular de forma sincronizada e 4) Sincronizar a ovulação por meio da sincronização do pico de LH e a partir daí estimar o momento da IA de acordo com o horário previsto para a ovulação. .

Os primeiros protocolos de sincronização com progesterona usavam o hormônio por um período de 11 a 14 dias, porém com relatos de baixas taxas de prenhez (MORAES et al., 2002). Trabalhos com associação de luteolíticos ou estrógenos com P4 por menos de 14 dias foram relatados já na década de 60 (WILTBANK e KASSON, 1968). Odde (1990) relatou altas taxas de ovulação no sistema com progestágeno e estradiol, mesmo em animais em anestro, porém com grandes variações nas taxas de prenhez.

A base desses sistemas ainda é utilizada nos protocolos com Crestar[®], implante auricular com 3mg de Norgestomet, MURTA et al. (2001), por exemplo, conseguiram média acima de 60% de gestação com protocolos utilizando Norgestomet e VE. Entretanto, Rodrigues et al. (2004) constataram maiores taxas de ovulação e diâmetro de corpo lúteo nas novilhas que

receberam o benzoato de estradiol (BE) em detrimento daquelas que receberam VE.

As fontes mais utilizadas de P4 atualmente não são os implantes auriculares e sim os dispositivos vaginais de progesterona (BARROS et al., 2000). A utilização de P4 demonstrou ser a forma mais eficiente de sincronizar a onda folicular em curto período (MIALOT et al., 2003). A progesterona associada com aplicação de estrógeno tem por objetivo provocar atresia dos folículos antrais existentes, independentemente de seus estágios de desenvolvimento. A atresia é causada pela supressão do FSH e LH, levando ao recrutamento de nova onda folicular que surge de 2 a 4 dias depois (BÓ et al., 2004; SÁ FILHO et al., 2010). Uma alternativa ao uso de estrógeno é aplicar o GnRH no dia da introdução do dispositivo contendo P4, pois apresenta a mesma eficácia, embora economicamente não seja interessante tendo em vista o seu maior custo (SILVEIRA et al., 2011).

O período ideal que o animal fica exposto à P4 ainda é discutível, variando geralmente entre oito e nove dias. Pereira et al. (2014) não encontraram diferença na taxa de concepção quando avaliaram mais de 700 vacas leiteiras sincronizadas com P4 exógena por oito ou nove dias. Martins et al. (2014) demonstraram menor eficiência dos implantes de P4 mantidos por sete dias do que nove dias.

Altas concentrações de P4 também influenciam negativamente a expressão dos receptores de LH nas células da granulosa (DIAS et al., 2014). A concentração circulante de P4 próximo ao momento da IA tem efeito direto na prenhez, pois diminuem a frequência de liberação de LH, comprometendo o crescimento folicular e a ovulação (PEREIRA et al., 2013). Informação esta que fortalece a importância do encerramento da fase progestacional de maneira eficiente, que deve ser realizado com a retirada da fonte de P4 e aplicação de agente lutelítico (PGF), especialmente para animais cíclicos, para lise de um possível CL existente (TANIGUCHI et al., 2007). Nesta fase também é preciso ter cuidado com a eficiência da luteólise, Ferraz Junior et al. (2012) relataram que 25% das vacas de corte, não apresentaram luteólise completa quando receberam PGF no sétimo dia do ciclo estral. Entretanto, alguns trabalhos não observaram alterações nos índices de prenhez mesmo com redução pela

metade da dose recomendada em bula da PGF (SILVA et al., 2012; MENDANHA et al., 2012).

O fornecimento contínuo de P4 inibe a liberação de LH e quando cessado este fornecimento é desencadeada uma onda de LH capaz de induzir o crescimento final do folículo pré-ovulatório até a ovulação (MORAES et al., 2001).

Com a utilização de P4 é possível obter resultados satisfatórios mesmo em situação de anestro dos animais, uma vez que sem a presença de CL os níveis subluteais de P4 promoveriam um estímulo positivo na pulsatilidade do LH, estimulando o crescimento folicular e todos os benefícios decorrentes disso (PALOMARES-NAVEDA et al., 2008). Baruselli et al. (2004) demonstraram melhora na eficiência reprodutiva de vacas em anestro pós-parto com redução do tempo médio para conceber na estação de monta quando receberam P4 (18,3±25,8 dias para fêmeas que recebem implantes intravaginais e 28,3±28,8 dias para fêmeas que receberam implante auricular de norgestomet) comparada as fêmeas que não receberam, (57,6±18,3 dias para fêmeas sem nenhum tratamento hormonal e 46,3 ± 26,3 dias para fêmeas tratadas com Ovsynch).

3.3.4 Efeito do eCG em protocolos de IATF.

No pós-parto, alguns folículos dominantes, no momento da aplicação do indutor de ovulação, são menores que os ovulatórios normais e podem sofrer atresia antes de atingir o tamanho necessário para responder a ovulação, isso ocorre mesmo com a utilização de progesterona exógena (YAVAS, 1999). A fim de solucionar esse problema e promover um maior crescimento final do folículo tem se utilizado a gonadotrofina coriônica equina (eCG) (ROSSA, 2002).

A eCG é uma gonadotrofina de meia vida longa, que se liga aos receptores de FSH e LH nos folículos promovendo o crescimento, a maturação folicular e conseqüentemente a ovulação (BARUSSELI et al., 2008). Age como sincronizador indireto da ovulação, pois com o crescimento folicular, ocorre maior liberação de estradiol, desencadeando os mecanismos ovulatórios de forma mais sincronizada (CAVALIERI et al., 1997). A ligação da eCG ocorre também nos receptores de LH do CL, promovendo aumento nas células luteais

e conseqüentemente maior produção de P4 (SOUZA et al., 2009), influenciando positivamente nas taxas de concepção da IATF e melhorando a qualidade folicular dos ciclos estrais seguintes (BARUSELLI et al., 2000; BÓ et al., 2003).

A ação luteotrófica da eCG foi evidenciado por Wecker et al. (2012) em fêmeas da raça Brangus, os animais tratados com eCG tem maior chance de apresentar CL com diâmetro acima de 20mm, quando avaliado sete dias após a IATF do que os animais não tratados com eCG, além de apresentar maior crescimento folicular no ciclo subsequente, quando avaliado 12 dias após a IATF. O que justifica os dados encontrados por Marques et al. (2005) e Baruselli et al. (2004) que relataram aumento na concentração plasmática de P4 após a ovulação em animais que receberam eCG no oitavo dia do protocolo de IATF em relação aos animais que não receberam, indicativo do potencial da eCG em incrementar as taxas de prenhez nos protocolos de sincronização.

A eCG vem sendo aplicada no momento da retirada do implante de P4, com objetivo de alterar o padrão de crescimento folicular e incrementar os índices de fertilidade (SOUZA et al., 2009). O estímulo ao crescimento folicular da eCG acontece mesmo em animais em anestro, ou que devido às altas taxas de P4 exógena, apresentam comprometimento na liberação de gonadotrofinas (BARUSELLI et al., 2008), possibilitando aumentar taxa de concepção em fêmeas com baixo escore de condição corporal (ECC; BARUSELLI et al., 2004a; ROCHA et al., 2007), antecipar o serviço pós-parto e trazer maior quantidade de prenhez para o início da estação de monta (BARUSELLI et al., 2012).

Segundo Viscara et al. (1998) o ECC geralmente está diretamente relacionado à ciclicidade. Buscando avaliar a reposta da eCG em vacas Nelore pós-parto com ECC variando entre 1,5 a 2,5 (escala de 1 a 5), Baruselli et al. (2003) realizaram experimento utilizando 400UI de eCG em um grupo e mantendo outro como controle, realizaram avaliação ovariana no D0, e classificando os animais em três grupos, um com presença de CL, um com folículos acima de 8mm e o terceiro apenas com folículos menores. Perceberam influência positiva da eCG na taxa de concepção das vacas que não possuíam CL no D0, indicando a eCG especialmente para situações de baixa ciclicidade. Souza (2008) também identificou eficiência da eCG somente

em fêmeas com baixo ECC (inferior a 2,75), enquanto que Dias et al. (2013) conseguiram igualar as taxas de concepção em vacas de diferentes ECC com a utilização de eCG em todos os animais e questionam a utilização de eCG em animais com ECC acima de 3,5 (escala de 1 a 5).

Sá Filho et al. (2010a) sincronizaram vacas zebuínas em anestro pós-parto para IATF, utilizando protocolo com estrógenos e implante de P4 por nove dias com aplicação de 400UI de ECG no momento da retirada do implante, perceberam maior taxa de crescimento folicular e um incremento de 20% na taxa de prenhez em comparação com animais na mesma situação que não receberam a gonadotrofina. Sales et al. (2011) trabalharam com 300UI de eCG no oitavo dia do protocolo, quando foram removidas as fontes de P4, também observaram aumento da taxa de crescimento folicular e maior taxa de ovulação, inclusive quando comparado a animais que receberam FSH. Tais benefícios também puderam ser observados em novilhas zebuínas (SÁ FILHO et al., 2006; SÁ FILHO et al., 2010b).

Entretanto quando utilizado em vacas Nelore com mais tempo de lactação e cíclicas a eCG não representou alterações significativas nas taxas de prenhez (Ereno et al., 2007). Resultado também encontrado por Rossa (2002) que avaliando dois grupos de animais, um com pós-parto precoce (menos de 45 dias), outro com pós-parto tardio (mais de 45 dias) em três tratamentos experimentais, sendo um controle, um com eCG e outro com BE, só perceberam incremento do eCG em detrimento do BE no grupo de pré-parto precoce, que apresentava menor ciclicidade, sendo que o BE foi semelhante ao eCG no grupo de pós-parto tardio e ambos foram superiores ao grupo controle, o que só identifica a importância de um indutor de ovulação.

Baruselli et al. (2004b) também não observaram efeito no aumento da taxa de crescimento folicular de novilhas cíclicas, porém perceberam maior taxa de ovulação, o que pode justificar a utilização da eCG mesmo em situação de ciclicidade. Assim como Meneghetti e Miguel Jr. (2008) que perceberam tendência de maior taxa de prenhez em novilhas cíclicas ($p = 0,068$) que receberam eCG, possivelmente pela atividade da gonadotrófica da eCG em combater a influência negativa das altas concentrações de P4 na pulsatilidade de LH, esta ação seria mais evidente em novilhas (CARVALHO et al., 2008).

Marques et al. (2005) avaliaram a importância do eCG em novilhas com diferentes níveis de progesterona, os animais foram sincronizados com aplicação de BE e colocação de dispositivo de P4, retirado no D8 quando foi aplicada PGF e o indutor foi o BE aplicado no D9, sendo realizadas inseminações no D10, um grupo recebeu aplicação adicional de PGF no D0, e animais de ambos os grupos foram divididos com e sem eCG no D8. Não foi observado efeito da dose extra de PGF nas taxas de prenhez, porém a adição de eCG fez essa taxa subir de 15,7% nos animais que não receberam-na para 34,9% das fêmeas com eCG.

A recomendação, como descrito nos trabalhos, é que a aplicação da eCG seja feita no dia da retirada do implante de P4, inicialmente numa dosagem entre 300 e 400UI, porém Rocha et al. (2007) e Doroteu et al. (2014) não encontraram diferença significativa na taxa e prenhez de vacas com cria ao pé ao utilizar 300UI ou 200UI de eCG no D8, sendo que no primeiro trabalho ambos os grupos com eCG foram melhores que o controle.

Sá Filho et al. (2009), compararam grupo de desmama temporária (chang), com um recebendo 200, outro 400UI de eCG e sua influência sobre a taxa de ovulação e de concepção de vacas inseridas em programa de IATF e não perceberam diferença dos índices, constatando eficiência semelhante entre os três tratamentos.

Alguns autores afirmam que a adição de FSH em protocolos de IATF também promoverá os mesmos efeitos que a de eCG (SANTOS et al., 2004; MARTINS et al., 2010), enquanto que outros pesquisadores não encontraram melhoras nos índices com a utilização do FSH (SÁ FILHO et al., 2009; SALES et al., 2011).

3.4 Peculiaridades de categorias

De uma forma geral os protocolos de sincronização para IATF estabelecidos a base de progesterona e estradiol têm apresentado resultados satisfatórios em vacas pluríparas de corte, oscilando principalmente em situações de baixa ciclicidade, como em casos de deficiência nutricional, pós-parto precoce, baixo ECC e algumas categorias, como nulíparas e primíparas (BARUSELLI et al., 2008).

Muito se questiona sobre qual protocolo utilizar em novilhas, porém o fator que mais influencia no resultado é o estado em que essas novilhas se encontram. Dentre as novilhas ainda podemos subdividir os animais em várias categorias, de acordo com a situação fisiológica: Impúberes, pré-púberes (próximas à puberdade), púberes imaturas (ciclos incompletos), púberes maduras e cada um desses grupos responde de forma diferente à terapia hormonal de sincronização (MADUREIRA E MATUREANA FILHO, 2012). O primeiro ciclo estral seguido pelo desenvolvimento e manutenção do CL pelo período normal é o que define a puberdade (KINDER et al., 1987)

Souza et al. (1995) afirma que novilhas zebuínas são mais tardias que as taurinas. Entretanto existem grandes avanços no melhoramento genético de zebuínos no que diz respeito à precocidade sexual. Sá Filho et al. (2008) relatou novilhas que atingiram a puberdade a partir de 13 meses, diversos são os fatores que influenciam a idade à puberdade de novilhas, principalmente a genética e a nutrição, mas a estação do ano e situações como a presença de macho ou a terapia hormonal também atuam neste sentido.

A hipófise da novilha é capaz de sintetizar e armazenar LH e FSH mesmo antes da puberdade (KINDER et al., 1987), aparentemente é a baixa secreção de GnRH que controla a reprodução desta fêmea do nascimento à puberdade (MORAN et al., 1989). As fêmeas bovinas já apresentam um sistema hipotalâmico-hipofisário-gonadal funcionalmente maduro de um a três meses de idade, entretanto uma alta sensibilidade ao efeito de *feedback* negativo ao estradiol não permite a ocorrência de estro nesses animais até atingirem a puberdade (NAKADA et al., 2002).

A progesterona por sua vez acelera a diminuição do efeito de *feedback* negativo do estradiol, acelerando também a entrada da puberdade por elevar a secreção de LH e alterar sua pulsatilidade após a retirada da fonte de fornecimento da mesma (ANDERSON et al., 1996). Sá Filho et al., (2006) trabalhando com novilhas impúberes e pré-púberes (sem presença de CL ou folículos maiores que 8mm), encontraram aumento significativo na ciclicidade e nas taxas de prenhez à IATF nos animais que foram estimulados previamente à sincronização, com implante contendo baixas concentrações de P4. Indicando a utilização de P4 por oito dias para acelerar a entrada na reprodução daqueles animais que já estão próximos de atingir a puberdade.

O ideal é que estas fêmeas comecem a estação de monta com ciclicidade regular (LOBATO, 1997) e peso equivalente a 55-60% do peso adulto de vacas com o mesmo perfil genético, pesos inferiores poderiam comprometer o desempenho reprodutivo dessas fêmeas nas estações seguintes (WILTBANK et al., 1985). Mesmo com puberdade madura o desempenho de novilhas podem ser inferiores aos de vacas em programas de IATF, principalmente novilhas zebuínas (MADUREIRA E MATURANA FILHO, 2014).

Como já comentado, é sabido que novilhas apresentam menor eficiência em protocolo Ovsynch (BO et al., 2003), devido a freqüente falha na resposta ovulatória à primeira aplicação de GnRH, (PURSLEY et al., 1995). As associações de progesterona por sete a nove dias, com aplicação de PGF apresentam melhores resultados de sincronização em novilhas (AMBROSE et al., 2004), principalmente quando associados ao estrógeno (BARROS et al., 2000). Entretanto os resultados encontrados ainda apresentam grandes variações (BARUSELLI et al., 2004). Carvalho et al. (2008) sugerem que novilhas seriam mais sensíveis a doses altas de P4, que possuem ação antagônica à liberação de LH, acarretando em variações de crescimento folicular e causando a dispersão ou falha da ovulação.

Em busca de reduzir as concentrações plasmáticas de P4 durante os protocolos, pesquisas foram realizadas adicionando uma dose de PGF no momento da inserção do dispositivo, esta aplicação extra de PGF influenciou na taxa de crescimento folicular, no diâmetro do folículo dominante ao oitavo dia e na taxa de ovulação (CARVALHO et al., 2008). Gottschall et al (2007) avaliaram a aplicação da PGF no quinto dia do implante e também observaram eficiência maior no crescimento folicular e na taxa de ovulação, sugerindo que a redução nos níveis plasmáticos de P4 podem influenciar positivamente nas taxas de prenhez de novilhas submetidas à IATF. Entretanto, a eficiência direta na taxa de prenhez da aplicação de PGF no D0 não foi observada por Marques et al. (2005).

Diferentes fontes de P4 vão ter diferentes níveis de bloqueio do LH. Sá Filho et al., (2006) avaliaram eficácia de duas fontes de P4 na sincronização de novilhas, com e sem aplicação de PGF no momento da inserção do dispositivo. No primeiro grupo foi utilizado o implante auricular com norgestomet e no outro

dispositivo intravaginal de progesterona. A dose inicial de PGF se mostrou eficaz na sincronização da ovulação, mas não afetou a taxa de crescimento folicular, que por sua vez foi influenciada pela fonte de P4, assim como a taxa de ovulação e o tamanho médio do folículo dominante, sendo que o progestágeno norgestomet se mostrou mais eficiente que o implante de P4. No ano seguinte foi comparada a utilização de BE ou VE no D0 de novilhas tratadas com norgestomet e percebeu um atraso na emergência de nova onda quando foi utilizado o VE, diminuindo a eficácia desse éster de estradiol na sincronização de recrutamento para a categoria de novilhas (SÁ FILHO et al., 2006).

Marques et al. (2005) relataram incremento nas taxas de concepção com a utilização da eCG em novilhas sincronizadas com dispositivo auricular Norgestomet. Quanto ao indutor de ovulação a ser utilizado em novilhas, Sá Filho et al. (2008) compararam BE administrado 24 horas após a remoção do dispositivo, com o CE no momento da retirada ou o GnRH no momento da IATF e nenhum deles diferiu nos índices de fertilidade quando os animais foram inseminados com 54 horas após a remoção do dispositivo auricular. Enquanto que em vacas de corte pluríparas e cíclicas, alguns trabalhos relatam superioridade nos índices quando se utiliza uma fonte de estrógeno como indutor de ovulação ao invés do GnRH (AYRES et al., 2006; SÁ FILHO et al., 2009; GOTTSCHALL et al., 2012).

Outra categoria que representa um gargalo nos índices reprodutivo é a de primíparas. Em diferentes protocolos com duas fontes de P4, utilizando BE ou VE na colocação do dispositivo, e mesmo usando eCG nos animais, Almeida et al. (2006) encontraram piores índices na IATF de vacas primíparas do que em pluríparas, diferença também relatada por Soto Belloso et al. (2002), que observaram inferioridade do desempenho reprodutivo de primíparas durante toda a estação de monta.

3.6 Proporção de gênero da cria

A separação dos espermatozoides pelos cromossomos sexuais teve início na década de 80 com a utilização da técnica de citometria de fluxo. Esta técnica é baseada na diferenciação de densidade da cromatina de

espermatozoides contendo cromossomos X e Y, em que o espermatozoide X é maior e mais denso que o Y na maioria dos mamíferos (JOHNSON et al., 1989). Este processo tem uma eficiência de aproximadamente 90% (SEIDEL JR. et al., 1999), porém ainda existem duas limitações para sua maior utilização no campo: a primeira é a velocidade de separação, o que reduz a disponibilidade e aumenta o preço da dose de sêmen sexado, a outra são as menores taxas de concepção (WEIGEL, 2004).

As taxas de concepção obtidas atualmente com o sêmen sexado são cerca 80% das taxas verificadas com sêmen não sexado (DE JARNETTE et al., 2008). A primeira hipótese para esses piores índices é a menor quantidade de espermatozoides totais da dose inseminante do sêmen sexado (aproximadamente 2×10^6 por palheta), enquanto que a dose convencional possui em média 10×10^6 de espermatozoides progressivamente móveis. Para confirmar essa teoria, Sá Filho et al. (2010) compararam a utilização de uma dose de sêmen sexado ($2,1 \times 10^6$) com duas doses por inseminação ($4,2 \times 10^6$) e não encontraram diferenças nas taxas de concepção. Seidel e Schenk (2008) também avaliaram doses de $1,5$ a 6×10^6 espermatozoides sexados em dois locais diferentes de inseminação, no corpo ou no corno uterino ipsilateral à ovulação, em comparação com doses de sêmen não sexado, nenhuma das estratégias conseguiu obter eficácia similar ao sêmen convencional.

Sá Filho et al. (2012) também não encontraram incremento na taxa de concepção do sêmen sexado quando inseminado no corno uterino quando comparado com inseminações no corpo do útero. Borchersen e Peacock (2009) observaram diferenças de índices por raça do touro e o sêmen sexado continuou inferior ao convencional, sendo que dentre as raças avaliadas o Jersey foi o mais eficiente.

Existem evidências que o espermatozoide se torna parcialmente capacitado quando submetido à citometria de fluxo para diferenciação sexual (LU e SEIDEL, 2004), este processo é geralmente realizado antes da criopreservação, que por sua vez também acarreta alterações semelhantes ao processo de capacitação e uma série de lesões celulares, portanto o espermatozoide fica com vida fértil muito reduzida (CORMIER et al., 1997), e necessita ser depositado no útero das fêmeas o mais próximo possível da ovulação.

Sales et al. (2011) compararam sêmen sexado e convencional em dois momentos distintos de inseminação em vacas sincronizadas (54 ou 60 horas após a retirada do progestágeno) e encontraram melhores taxas de concepção do sêmen sexado quando a inseminação era atrasada e, portanto, mais próxima da ovulação. Ainda assim, esses índices foram significativamente menores que os dos dois grupos que receberam sêmen convencional. Sá Filho et al. (2012) só conseguiram índices de prenhez equivalentes ao não sexado em vacas com folículo dominante maior que nove milímetros no momento da inseminação (56,8% com sexado e 58,9% do não sexado), porém em animais com menor diâmetro folicular, o uso de sêmen convencional foi 18% superior, mostrando eficiência nesta técnica para a utilização do sêmen sexado. Entretanto, a utilização de ultrassonografia para aferição do diâmetro folicular durante a inseminação ainda não é viável para a grande maioria das fazendas brasileiras, tendo em vista as dimensões do país, tamanho de rebanho e disponibilidade de profissionais com capacitação e recurso de executar a ultrassonografia.

De qualquer maneira a prenhez com sêmen sexado fica mais onerosa para o pecuarista (cerca de U\$ 20,00 a mais), pois o custo da dose é mais elevado, pelo menos enquanto a tecnologia de citometria de fluxo continuar restrita e o processo lento, produzindo pouca oferta. Combinado com os menores índices de concepção do sêmen sexado, a tecnologia se torna muitas vezes economicamente inviável para a pecuária comercial.

Enquanto isso, alternativas mais baratas podem ser utilizadas para obter uma maior proporção do sexo desejado. Algumas pesquisas têm sido feitas para avaliar a relação entre o intervalo da inseminação com o momento da ovulação sobre a variação do sexo da cria (GUTIERREZ-ADÁN et al., 1999; RORIE et al., 1999; SEIDEL JR., 2003; MARTINEZ et al., 2004; ROELOFS et al., 2006a; SILVA et al., 2008). Os resultados são controversos, pois, quatro autores encontraram influência significativa na relação macho/fêmea das crias com o momento da inseminação, enquanto que RORIE et al. (1999) e ROELOFS et al. (2006a) não observaram diferença alguma trabalhando com taurinas de corte ou leiteiras, respectivamente.

Martinez et al. (2004) analisaram dados de inseminações em mais de 700 vacas e encontraram 73% de fêmeas no grupo que foi relatada

inseminação entre 8 a 18 horas após o início do estro e relação inversa nas vacas inseminadas com mais de 30 horas (72% de machos). Resultado semelhante foi encontrado por Silva et al. (2008) que trabalharam com novilhas nelore sincronizadas e induzidas com GnRH, em grupos inseminados a cada 6 horas, desde o momento da aplicação do GnRH até 24 horas depois e encontraram um crescimento linear na proporção de machos quanto mais tarde foi a inseminação, sem verificar alterações significativas nas taxas de concepção entre os grupos.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Animais

Foram utilizados 469 animais da raça Nelore de criações comerciais para produção de bezerros de corte divididos em duas categorias:

A) Novilhas: grupo de 182 nulíparas com idade entre 22 e 26 meses, média de peso vivo de 343,35 Kg (70% do peso adulto médio dos animais desta propriedade) com escore de condição corporal (ECC) variando de 6 a 7 em uma escala de 1 a 9 como proposto por Nicholson e Butterworth (1986), previamente avaliadas ginecologicamente. Foram selecionados animais identificados com presença de corpo lúteo ou folículo acima de 8 mm de diâmetro e descartados animais que apresentaram qualquer sinal de menor eficiência reprodutiva, como estreitamento de vulva e subdesenvolvimento de alguma parte do aparelho reprodutivo.

B) Vacas: grupo com 286 pluríparas, que já tiveram entre 2 e 6 partos, idade variando entre 48 a 108 meses, peso médio de 480 Kg, com escore de condição corporal variando de 5 a 6 numa escala de 1 a 9. Os animais entraram no programa de IATF com 30 a 60 dias pós-parto. Com histórico de fertilidade em todos seus anos anteriores e sem qualquer registro de patologia reprodutiva e/ou aborto e/ou parto distócico.

Todos os animais eram identificados com numeração de marca a fogo e brinco contendo o mesmo número, possuíam registro de vacina contra clostridioses, febre aftosa e brucelose de acordo com o exigido pela legislação brasileira, porém não possuíam histórico de vacinação contra outras doenças

reprodutivas, como Rinotraqueite Infecciosa Bovina, Leptospirose ou Diarréia Viral Bovina.

4.2 Local

O experimento foi realizado em três propriedades, blocadas a fim de controlar o efeito “Fazenda”, localizadas na região sudoeste da Bahia, sendo: Fazenda O (Fazenda Oriente) no município de Macarani-BA, com área de 1372 ha, Fazenda I (Fazenda Itamotinga) localizada em Caatiba-BA, com área de 1080 ha e Fazenda K (Fazenda Kardenar) no município de Itapetinga-BA com 490 ha. Em todas as fazendas os animais foram mantidos em sistema de pastejo contínuo em pastagem cultivada de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú e *Brachiaria decumbens* com acesso a água e mistura mineral comercial específica para fêmeas em reprodução (Matsuda Fós Reprodução®) *ad libitum*.

Os rebanhos eram formados por gado comercial para produção de bezerros de corte, utilizando estação de monta para as vacas de 120 dias, entre os meses de novembro a fevereiro, sendo a estação de novilhas com duração de 60 dias entre os meses de setembro e outubro. A IATF já era rotina implantada nas fazendas com repasse realizado por touros, soltos com as fêmeas depois de decorridos 15 dias da inseminação artificial, para facilitar a identificação da paternidade. Tanto as inseminações quanto o repasse eram realizados com touros da raça Nelore.

Todo manejo das fêmeas foi realizado em curral existente nas propriedades. Os exames ginecológicos, as aplicações dos fármacos e a IATF foram realizados individualmente em brete de contenção física apropriado. Os animais foram distribuídos em lotes de manejo com 75 a 90 fêmeas por vez, com intervalo de duas semanas entre a sincronização dos mesmos, sendo que das novilhas ocorreu no mês de setembro e das vacas entre os meses de novembro e janeiro.

4.3 Sincronização de estro

Os animais foram sincronizados com aplicação de 2mg de benzoato de estradiol (Ric-Be[®]-União Química) e colocação de implante vaginal de liberação lenta de progesterona (Progesterona 4-pregnane-3,20-diona micronizada, 750mg; Prociclar[®]- Hertape Calier) em um dia aleatório do ciclo estral chamado de D0. No mesmo horário, no D8, foi retirado o implante, aplicado análogo de prostaglandina (0,4 mg de cloprostenol sódico; Sincrocio[®]-Ourofino Agronegócios) e 300UI de eCG (Novormon[®]-Zoetis). No D9, 24 horas depois da retirada dos implantes, foi induzida a ovulação com 1 mg de benzoato de estradiol (Ric-Be[®]-União Química) como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Protocolo de sincronização de cio e indução da ovulação utilizado para IATF.

Dia	Horário	Tratamento
D0	13 h	Implante de P4 + 2ml de BE
D8	13 h	Retirada do Implante + 2ml de PGF + 1,5ml de ECG
D9	13 h	1ml de BE

4.4 Dinâmica Folicular

Para avaliar a resposta dos animais ao protocolo de sincronização e o momento da ovulação foram utilizadas 12 novilhas e 20 vacas sincronizadas com o mesmo protocolo de sincronização descrito anteriormente. Foi feita ultrassonografia transretal com uso de transdutor linear de 7,5 MHZ (DP-2200Vet - Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. LTDA) para identificação e mensuração do folículo dominante. Essas avaliações foram realizadas no D9 (24h após a remoção do implante de P4), nos horários estabelecidos para a inseminação (42, 54 e 66 horas após a remoção do implante) além de duas avaliações posteriores, uma as 72 e outra às 80 horas para avaliar a resposta ao protocolo e estimar o momento da ovulação.

O folículo dominante tinha seu diâmetro medido a cada avaliação até o desaparecimento do mesmo, sendo a última medida antes da ovulação considerada como diâmetro ovulatório e o momento da ovulação como o momento em que não se observou mais a presença do folículo dominante. Os animais foram examinados 10 dias depois para identificação da presença de CL e confirmação da ovulação, possibilitando avaliar a taxa de ovulação.

4.5 Tratamentos

Os animais de cada categoria e fazenda foram alocados aleatoriamente em três grupos experimentais (G42, G54 e G66) que variavam de acordo com o momento de inseminação artificial em tempo fixo após a retirada do implante: 42, 54 e 66 horas, respectivamente. (Tabela 2).

Tabela 2 – Grupos experimentais.

Grupo	Momento da IATF
G42	42 horas após a retirada do implante de P4
G54	54 horas após a retirada do implante de P4
G66	66 horas após a retirada do implante de P4

Foi sorteada a ordem dos grupos e então as fêmeas foram alocadas de forma alternada de acordo com a entrada das mesmas no brete de contenção para o manejo no D9. No momento que era aplicado o indutor de ovulação, as fêmeas foram pintadas com números e cores diferentes (Figura 1), além de anotado o número de identificação para maior confiabilidade das informações.

As inseminações foram realizadas pelo mesmo inseminador utilizando sêmen comercial de mesma partida de dois touros da raça Nelore distribuídos igualmente de forma aleatória e alternada entre os grupos para evitar efeitos individuais dos touros. Para a inseminação, as doses foram descongeladas a 35°C durante 30 segundos, montadas em aplicador universal e depositadas no corpo uterino.

O sêmen utilizado foi doado para o experimento, envasados por duas diferentes empresas comerciais. As partidas do sêmen foram analisadas previamente de forma subjetiva por microscopia comum. Os resultados das análises subjetivas estão apresentados na Tabela 3 e estão dentro do recomendado pelo CBRA (2013) para utilização de sêmen congelado bovino. Os touros foram denominados de Touro A e Touro B e as doses foram envasadas em palhetas de 0,25 e 0,50 ml respectivamente.

Tabela 3 – Análises subjetiva do Sêmen.

Touro	Sptz*/Dose	Motilidade	Sptz* Normais	Defeitos Maiores
A	20,6x10 ⁶	60%	71%	14%
B	12,2 x10 ⁶	45%	82%	10%

*Sptz = Espermatozóides

4.6 Avaliação de aceitação de monta.

As fêmeas bovinas apresentaram diversas manifestações comportamentais durante a fase do estro, dentre elas a mais característica seria a de imobilidade durante a monta, inclusive a monta homossexual (BARUSELLI et al. 2007). Para mensurar a intensidade deste comportamento os animais foram marcados na região das últimas vértebras sacrais e primeiras vértebras coccígeas com tinta em bastão (Figura 1) no momento da aplicação do indutor de ovulação (D9) e mantidas em lotes sem a presença de rufiões, sendo montadas apenas por outras fêmeas do mesmo lote.

Figura 1 – Marcação para avaliação do comportamento de aceitação de monta.



No momento da inseminação os animais eram avaliados quanto ao desgaste da pintura na base da cauda, sendo classificados em três níveis diferentes de manifestação do comportamento de estro: 1) Fraco – a tinta permanecia praticamente intacta, a fêmea apresentava pouca ou nenhuma aceitação de monta de outras fêmeas do lote; 2) Médio – a tinta manchou significativamente, mas ainda era visível, podendo identificar sua cor, indicando aceitação de monta por parte das companheiras de lote; 3) Forte – a tinta desapareceu por completo, significando que a fêmea sofreu repetidas montas durante o período entre o indutor de ovulação e a inseminação artificial (Tabela 4; Figura 2).

Tabela 4 – Avaliação de aceitação de monta.

Intensidade	Situação da tinta
Fraco	Intacta
Médio	Manchada, porém visível
Forte	Imperceptível ou apenas resquícios

Figura 2 – Avaliação dos níveis de aceitação de monta realizados no momento da inseminação.



4.7 Diagnóstico de gestação e sexo fetal

Os animais permaneceram por 15 dias sem touro após a IATF. Foi realizado diagnóstico precoce de gestação entre 30 e 35 dias após a inseminação por meio de ultrassonografia transretal com transdutor linear de 7,5 MHZ (DP-2200Vet - Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co. LTDA).

A sexagem fetal foi realizada no período entre 60 e 80 dias através da identificação do tubérculo genital por ultrassonografia. Os fetos que apresentavam tubérculo próximo ao umbigo foram identificados como macho e fetos que tinham o tubérculo próximo à inserção da cauda foram identificados como fêmea. Para confirmação das informações foi coletado dados de nascimento das crias. No período entre o diagnóstico de gestação precoce e a sexagem fetal, bem como entre a sexagem e o nascimento foram identificadas perdas embrionárias e fetais.

O presente experimento teve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) em 30/04/2014 protocolo de número 002/14 para sua realização.

4.8 Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi o quadrado latino em um esquema fatorial 2 x 2 (categoria x tratamento).

O modelo estatístico utilizado foi:

$$Y_{ijklm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \delta_k + \omega_l + (\delta\omega)_{kl} + \varepsilon_{(ijkl)m}$$

em que:

y_{ijklm} = é o valor da parcela que recebeu o nível i do fator fazenda, o nível j do fator touro, o nível k do fator categoria e o nível l do fator tratamento na repetição m;

μ = é uma constante associada a todas as observações;

α_i = é o efeito do nível i do fator fazenda - i:1, 2 e 3;

β_j = é o efeito do nível j do fator touro - j:1 e 2;

δ_k = é o efeito do nível k do fator categoria - k:1 e 2;

ω_l = é o efeito do nível l do fator tratamento - l: 1, 2 e 3;

$(\delta\omega)_{kl}$ = é o efeito da interação entre os fatores categoria e tratamento;

$\varepsilon_{(ijkl)m}$ = é o erro associado a variável resposta;

Quanto a variável estro (aceitação de monta), que se caracterizou como do tipo multinomial ordinal, utilizou-se uma regressão logística considerando um modelo "odds" proporcional com o auxílio da função vglm do pacote VGAM versão 0.9-8 (YEE e WILD, 1996).

No tocante a variável diagnóstico de gestação e sexo, foi utilizado um modelo linear generalizado cuja distribuição de probabilidade considerada foi binomial. A função de ligação escolhida foi a "logit" (MCCULLAGH e NELDER, 1989). A função utilizada para estimação dos parâmetros foi a glm do pacote stats versão 3.1.2. Uma análise de desvio foi utilizada para encontrar quais termos do modelo foram significativos. Com o melhor modelo em mãos,

estimou-se a razão de chances e foi elaborado um intervalo de confiança de 95% para as razões de chances.

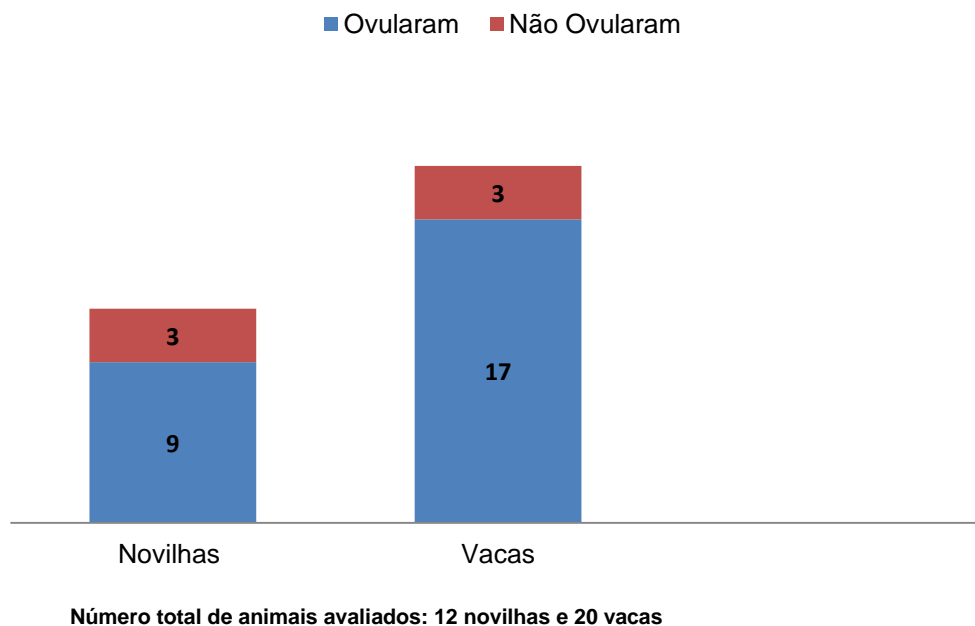
No caso da variável tempo de ovulação, utilizou o método bootstrap com 10.000 repetições. Para a variável taxa de ovulação, utilizou-se a estatística Z para diferença entre duas proporções. Para a variável diâmetro do folículo ovulatório utilizou-se uma estatística t de student para diferença entre duas médias independentes.

Todas as análises foram feitas com o auxílio do R Core Team (2015).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

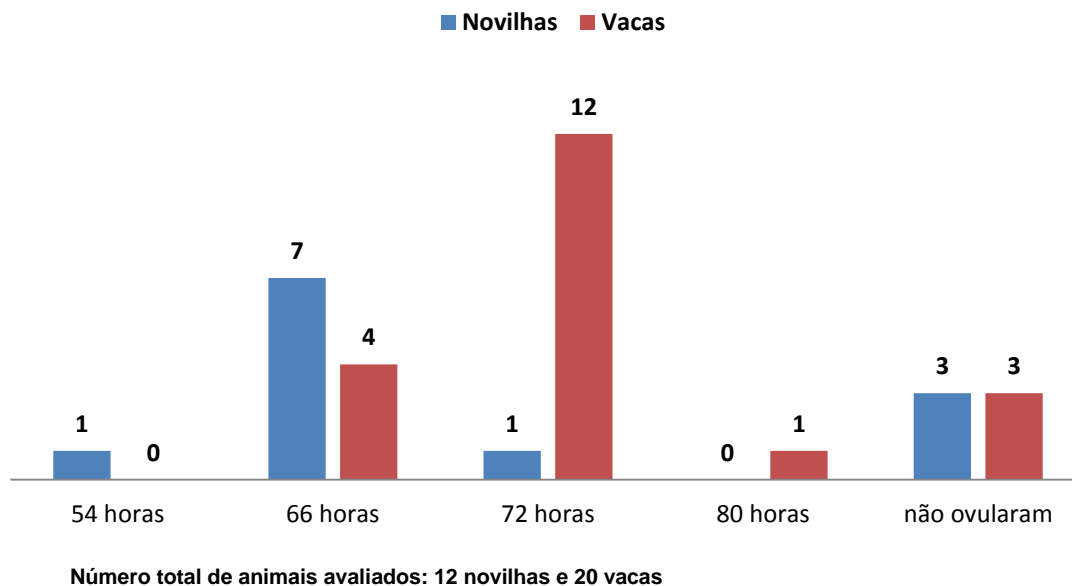
5.1 Dinâmica Folicular

A média do diâmetro do folículo ovulatório não variou por categoria ($P = 0,375$) sendo de $12,38 \pm 0,99$ mm nas novilhas e $12,74 \pm 0,91$ mm nas vacas. Estes resultados foram semelhantes (em torno de 12 mm) ao encontrado na literatura sobre sincronização de zebuínas à base de progesterona para IATF (CREPALDI, 2009; SALES et al. 2011; FERRAZ et al. 2013; RIBEIRO FILHO et al., 2013;). A média do diâmetro do folículo ovulatório está dentro do limiar que Martins et al. (2014) identificaram como ideais para obtenção de maiores taxas de concepção em novilhas zebuínas (entre 10,8 e 15,7 mm). Diversos autores citam uma relação positiva entre o tamanho do folículo ovulatório e as taxas de ovulação e concepção (DIAS et al. 2009; PEREZ et al., 2009; SÁ FILHO et al., 2009b). A variável taxa de ovulação também não diferiu entre as categorias ($P = 0,483$) sendo de 75% (9/12) para novilhas e 85% para as vacas (17/20; Figura 3). Resultado equivalente ao citado por alguns autores (MARTINS et al., 2014; SALES et al., 2011) e abaixo dos encontrados por Crepaldi (2009), Sá Filho et al. (2010b) e Andrade (2012) que foram de 91,7%, 94,4% e 89,5% respectivamente quando utilizaram BE no D9.

Figura 3: Frequência absoluta da ovulação

A única variável mensurada na dinâmica folicular que diferiu entre as categorias foi o momento de ovulação ($P= 0,0014$), que nas novilhas foi de $65,33 \pm 4,69$ horas enquanto que nas vacas foi de $71,06 \pm 3,47$ horas a partir da retirada do implante (Figura 4). O intervalo médio encontrado entre a retirada do implante e a ovulação nas novilhas está bastante próximos aos dados encontrados por Martins et al. (2005) que foi de 67,4 horas quando utilizado o BE no D9, porém difere dos citados por Sá Filho et al. (2008) que só perceberam ovulação a partir de 72 horas depois de retirada a fonte de P4, demonstrando as variações ainda encontradas na resposta de novilhas à sincronização. Enquanto que o resultado encontrado nas vacas ficou bem próximo ao frequentemente citado na literatura que é de 72 horas (SÁ FILHO, 2004; CREPALDI, 2009; ANDRADE, 2012;). Melo et al. (2010) encontraram um intervalo entre a retirada do implante e a ovulação mais curta em animais que receberam menor concentração de P4 durante o protocolo. A influência da P4 no momento da ovulação também é citada por Baruselli et al. (2006), o que justifica a discreta antecipação da ovulação do presente estudo, uma vez que a maioria das pesquisas são realizadas com implantes contendo 1000 mg de P4 e este trabalho foi realizado com implantes contendo apenas 750 mg.

Figura 4: Momento da Ovulação (números absolutos/ categoria)



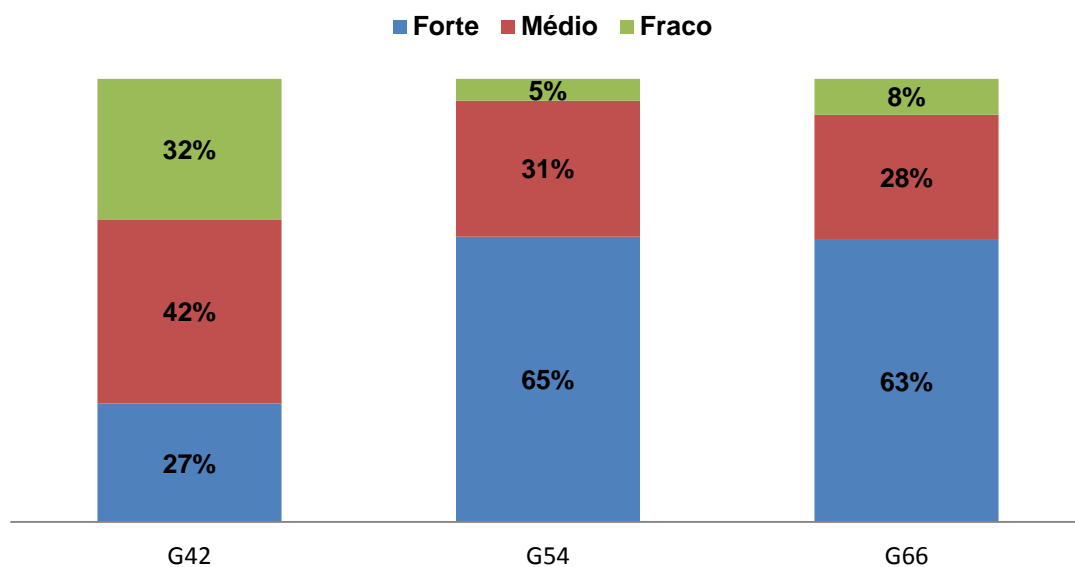
A ovulação antecipada das novilhas pode estar relacionada a um maior crescimento folicular, pois os folículos dominantes atingiram o mesmo diâmetro apresentado pelas vacas, em menor tempo, desencadeando assim os mecanismos ovulatórios mais precocemente. Por sua vez esse maior crescimento folicular se justifica pelo maior escore de condição corporal médio das novilhas (6 a 7) em relação às vacas (5 a 6), e a uma possível quantidade de vacas em anestro pós-parto (entre 30 e 60 dias).

5.2 Intensidade do comportamento de imobilidade perante a monta.

Os resultados encontrados para a intensidade de comportamento de imobilidade durante a monta (Figura 5 e Figura 6) demonstraram diferença entre o tratamento G42 para os demais ($P < 0,01$). Isso ocorreu principalmente devido ao momento da avaliação ser durante a inseminação artificial. Os animais do G42 estavam mais distantes do momento de ovulação. Segundo o momento médio encontrado as novilhas deste grupo foram avaliadas 23 horas antes da ovulação enquanto que as vacas 29 horas. Segundo Mizuta et al. (2003) as fêmeas Nelore ovulam em média $27,1 \pm 3,3$ horas depois do estro, o que justifica a maior quantidade de animais que apresentaram a tinta intacta,

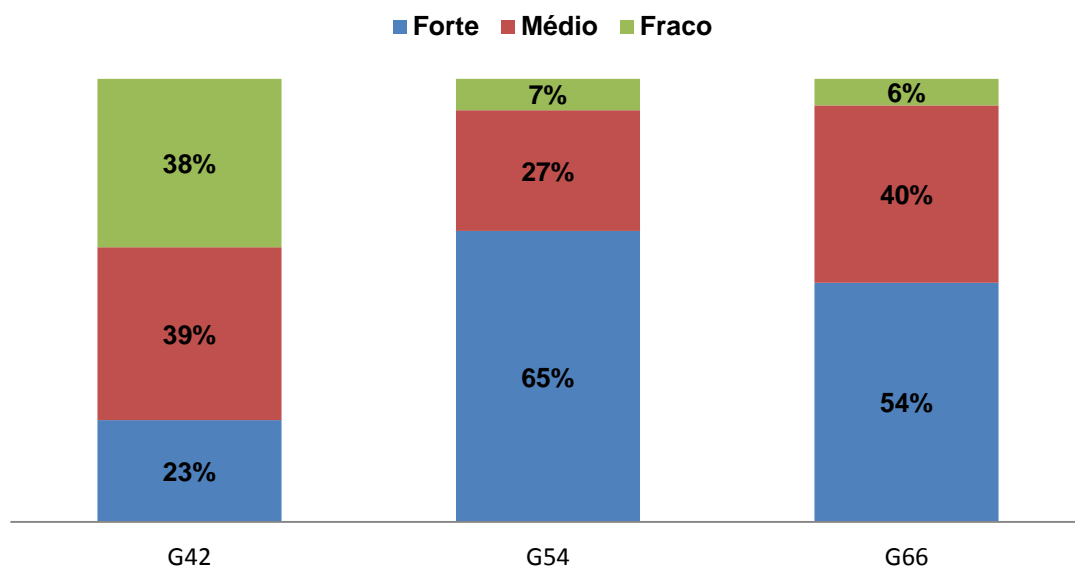
comportamento aqui denominado como fraco. O que indica que na verdade muitos desses animais foram avaliados antes de manifestarem o seu comportamento de imobilidade diante da monta. Os resultados não foram influenciados pela categoria animal ($P = 0,33$).

Figura 5: Intensidade de aceitação de monta: Novilhas



* G42 - IA 42 h após a remoção de P4. G54 - IA 54 h após a remoção de P4. G66 - IA 66 h após a remoção de P4

Figura 6: Intensidade de aceitação de monta: Vacas



* G42 - IA 42 h após a remoção de P4. G54 - IA 54 h após a remoção de P4. G66 - IA 66 h após a remoção de P4

A intensidade de aceitação avaliada exerceu influência nas taxas de concepção ($P = 0,00069$). Os animais com aceitação classificada como fraca apresentaram menores chances de concepção em todos os tratamentos (Tabela 5), principalmente nos grupos G54, onde apenas um animal ficou gestante e no G66 em que nenhum animal apresentou diagnóstico positivo. Este resultado sugere que a adoção da marcação no momento da indução pode ser usada como ferramenta para avaliar a viabilidade de inseminar animais que não manifestam comportamento de aceitação de monta até 54 horas após a remoção do implante, devendo ser levado em consideração a chance de concepção e o custo da dose inseminante. Os animais com comportamento considerado médio e forte também apresentaram diferenças nas taxas de concepção entre si, porém essa diferença foi menos significativa, podendo se tornar um fator para selecionar os animais que receberão sêmen de maior valor genético. A probabilidade de concepção também está demonstrada na Figura 7.

Tabela 5: Relação de Chances de um animal apresentar concepção positiva de acordo com o tratamento e a aceitação de monta.

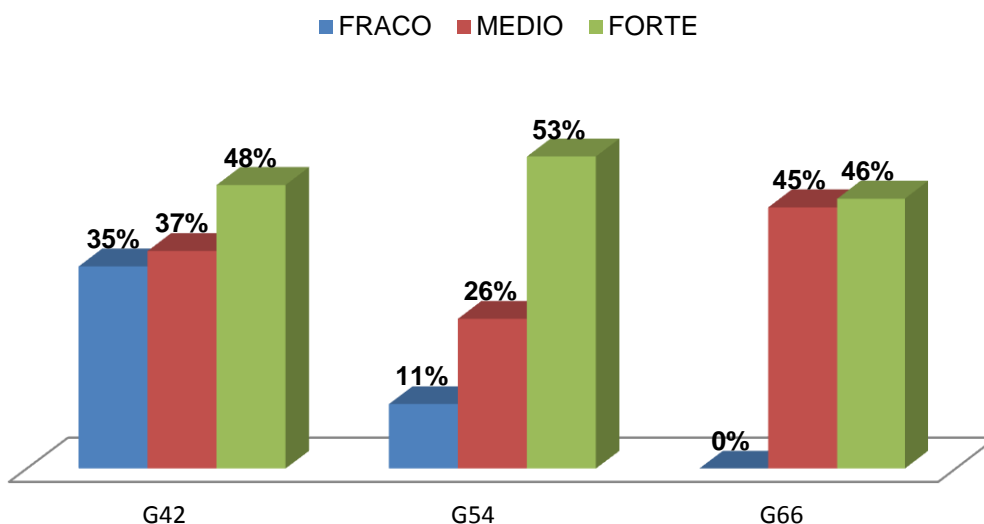
Tratamento	Relação entre Fator Aceitação de Monta	R. C.*
G42	Médio x Fraco	1,24
	Forte x Fraco	1,99
	Médio x Forte	0,62
G54	Médio x Fraco	3,3
	Forte x Fraco	10,52
	Médio x Forte	0,31
G66	Médio x Fraco	NA**
	Forte x Fraco	NA**
	Médio x Forte	0,85

*R.C. – Relação de chance de concepção positiva (ex: quando inseminados 42 horas após a remoção do implante, G42, animal que apresentou comportamento considerado Médio

tem 1,24 vezes mais chance de ter concepção positiva que o animal que apresentou comportamento Fraco)

** G66 não apresentou nenhum animal positivo com cio fraco, portanto os dados não podem ser avaliados.

Figura 7: Propabilidade de Concepção de acordo com Tratamento e comportamento de estro.

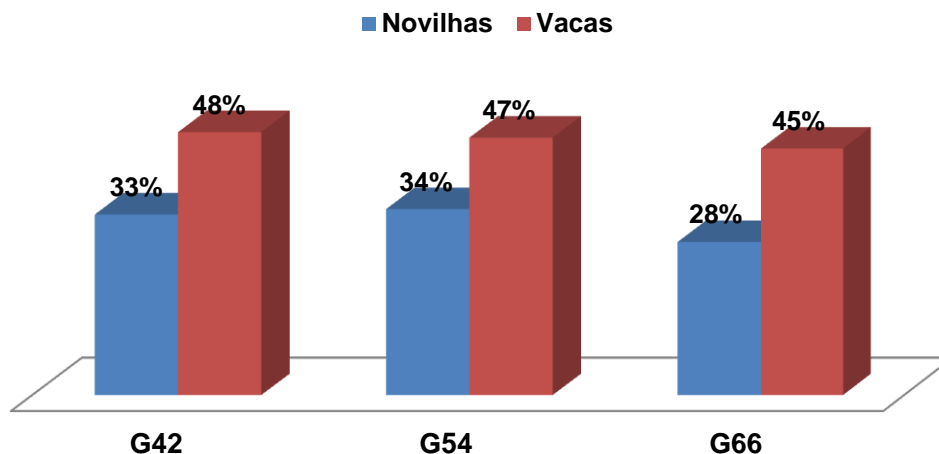


* G42 - IA 42 h após a remoção de P4. G54 - IA 54 h após a remoção de P4. G66 - IA 66 h após a remoção de P4

5.3 Taxas de concepção.

Além da intensidade de aceitação de monta o outro fator que influenciou a taxa de concepção foi a categoria animal (Novilhas 31,7% e vacas 46,7%). As novilhas apresentaram piores taxas quando comparadas com as vacas ($P = 0,00044$; Figura 8). Os resultados de prenhez obtidos nas vacas são semelhantes aos resultados encontrados por Sá Filho et al. (2010a) e Rossa (2002) quando as fêmeas avaliadas apresentavam um curto período após o parto (menos de 60 dias) e condizentes com a literatura que relatam taxas de concepção médias em torno de 50% em vacas de corte submetidas a IATF (BARUSELLI et al., 2006).

Figura 8: Taxa de concepção de acordo com o momento da inseminação (42, 54 ou 66 h após a remoção do implante)



G42 - IA 42 h após a remoção de P4. G54 - IA 54 h após a remoção de P4. G66 - IA 66 h após a remoção de P4

Um pior desempenho nas novilhas quando comparadas às vacas é frequente para taxa de concepção (MATURANA FILHO et al., 2011). Entretanto, os resultados aqui encontrados nas novilhas ficam abaixo dos encontrados por outros autores (SILVA, 2006; SÁ FILHO et al., 2010b; MARTINS et al., 2014;). Este pior desempenho seria explicado principalmente pela menor taxa de ovulação detectada nesta categoria animal. Outro fator que certamente influenciou no resultado foi o período do ano em que o experimento com as novilhas foi realizado, pois o mês de setembro antecede o início das chuvas na região, alterando a qualidade e quantidade de forragem disponível e o conforto térmico dos animais. Foram registradas temperaturas mais elevadas no mês de setembro do que nos meses posteriores no ano de 2014 (BRASIL, 2015). Essa hipótese se fortifica pelo fato das novilhas serem mais susceptíveis com diminuição do desempenho reprodutivo diante de estresse térmico do que as vacas (MATURANA FILHO et al., 2011), influenciando inclusive na manutenção da gestação, uma vez que algumas das novilhas diagnosticadas com prenhez aos 30 dias (8,6%) não confirmaram gestação no momento da sexagem fetal aos 70 dias, índice que não chegou a 1% nas vacas.

As taxas de concepção não diferiram entre as Fazendas ($P = 0,37$), entre os touros ($P = 0,99$) nem entre os tratamentos ($P = 0,66$). Variações no

momento da inseminação em protocolos utilizando progesterona e estradiol foram observados anteriormente (AYRES et al., 2006; PENTEADO et al., 2006; ANDRADE et al., 2012;) porém não com uma variação de 24 horas entre as inseminações e a ovulação. Este resultado difere dos encontrados por Roelofs et al. (2006) em vacas taurinas. Esses autores recomendam que as inseminações não sejam realizadas com um intervalo de 12 a 24 horas entre a inseminação e a ovulação, pois mesmo apresentando semelhantes taxas de fertilização, a pior qualidade dos embriões produzidos nas vacas inseminadas com intervalo maior que 24 horas reduziram a taxa de concepção. Diante do momento médio da ovulação mensurada no presente estudo foi estimado o intervalo médio entre as inseminações e ovulações por tratamento em cada categoria animal (Tabela 6).

Tabela 6: Intervalo entre o momento da IA e o momento médio da ovulação (MOV) por tratamento em cada categoria.

Tratamento	Novilhas (MOV - 65 h)	Vacas (MOV - 71 h)
G42*	23 horas	29 horas
G54*	11 horas	17 horas
G66*	- 01 hora**	5 horas

*G42, G54 e G66 = IA 42, 54 ou 66 horas após a retirada dos implantes respectivamente. ** as inseminações ocorreram em média uma hora após a ovulação

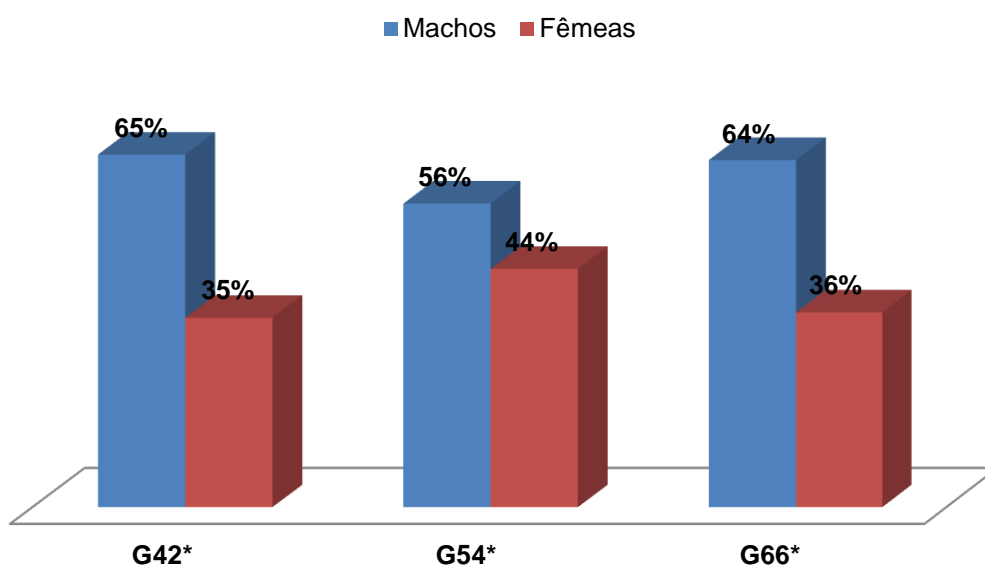
Este resultado possibilita uma facilidade logística dentro do manejo das fazendas de corte brasileiras, diante desta janela no momento da inseminação torna-se possível viabilizar a inseminação de grande número de animais ou até de lotes alocados em diferentes retiros ou propriedades mesmo que sincronizadas no mesmo dia.

5.4 Proporção de gênero

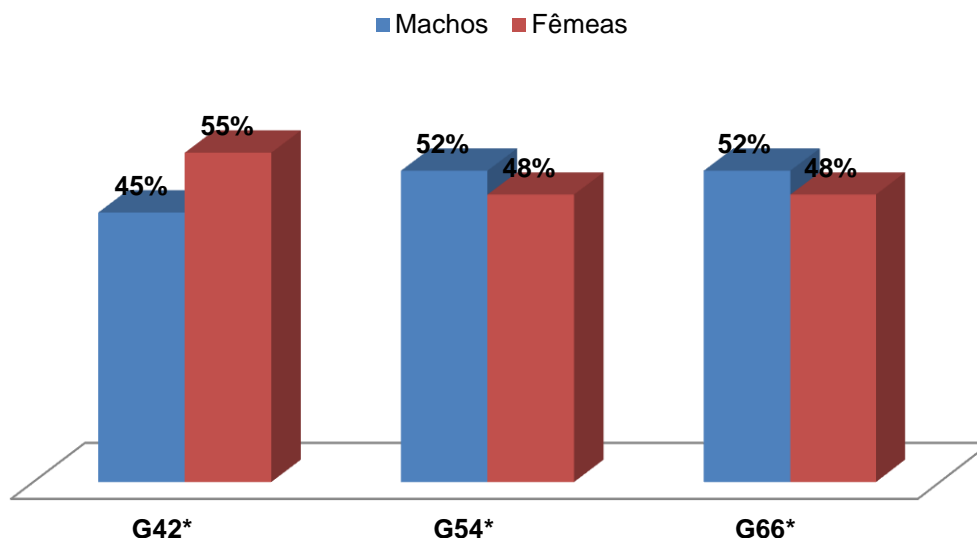
Nenhuma das variáveis estudadas teve efeito significativo sobre a proporção de gênero da cria nas fêmeas avaliadas no presente trabalho. Destaque principalmente para a falta de relação do momento de inseminação

(tratamentos G42, G54 e G66) com a proporção de gênero ($P = 0,52$; Figura 9 e Figura 10), diferentemente do relatado por Gutierrez-Adán et al. (1999) que encontraram relação positiva entre o momento de inseminação de ovelhas com a proporção de machos, além da influência do estágio de maturação de oócitos bovinos fertilizados *in vitro* com a proporção de sexo dos embriões produzidos, bem como Martinez et al. (2004) que avaliando relatos de 716 inseminações artificiais em bovinos leiteiros encontraram 73% de fêmeas oriundas das primeiras inseminações (a partir de 08 horas do início do estro) diminuindo essa proporção em 1,85% por hora atrasada, chegando a uma porcentagem de macho de até 72% em animais inseminados após 30 horas do início do estro. Um crescimento linear na proporção de machos também foi relatado por Silva et al. (2008) em novilhas zebuínas sincronizadas, entretanto no mesmo trabalho o teste para comparar as proporções entre os grupos não diferiu estatisticamente.

Figura 9: Proporção de gênero da cria de novilhas



* G42 - IA 42 h após a remoção de P4. G54 - IA 54 h após a remoção de P4. G66 - IA 66 h após a remoção de P4

Figura 10: Proporção de gênero da cria de vacas

* G42 - IA 42 h após a remoção de P4. G54 - IA 54 h após a remoção de P4. G66 - IA 66 h após a remoção de P4

Estes resultados corroboram com autores que afirmam não haver influência do momento de inseminação na proporção do sexo da prole, Rorie et al. (1999) não encontraram diferenças quando compararam inseminações com 10 ou 20 horas antes do momento esperado da ovulação em vacas da raça Angus, enquanto que Roelofs et al. (2006) trabalharam com uma janela variando entre 36 horas antes até 12 horas após a ovulação também encontrou equilíbrio entre a proporção de machos e fêmeas em taurinos leiteiros.

A partir desses resultados encontrados podemos afirmar que também em zebuínos de corte o momento de inseminação em nada interfere na proporção de machos ou de fêmeas da prole, sejam em nulíparas ou vacas pluríparas. Havendo necessidade de mais estudos sobre outros fatores que podem estar relacionados às chances de fecundação do espermatozoide contendo o cromossomo X ou Y, como ambiente uterino no momento da inseminação ou até características do líquido seminal de alguns touros dentre outros.

6 CONCLUSÕES

Os programas de sincronização de estro a base de progesterona, eCG e estradiol permitem grande maleabilidade no momento de inseminação sem prejuízos nos resultados, quando realizado em fêmeas zebuínas. Porém alguns detalhes na sincronização de nulíparas ainda precisam ser ajustados para melhorar a resposta na taxa de concepção destes animais, demandando mais pesquisas nesse sentido.

É fato que a utilização de dispositivos com concentração menor de P4 provocam ovulação antecipada e que a proporção de sexo das crias não é influenciada pelo momento da inseminação ou distância entre inseminação e ovulação, havendo necessidade de pesquisas que avaliem outros fatores que podem interferir nas chances de concepção do espermatozoide X ou Y.

A utilização de marcadores com tinta para medir a intensidade de aceitação de monta tem relação com a resposta ovulatória e com as taxas de concepção em programas de IATF, podendo ser ferramenta útil na realidade de fazendas do Brasil.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, G.P.; MATTERI, R.L.; KASTELIC, J.P.; KO, J.C.; GINTHER, O.J. Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v.94, p.177-188, 1992.
- AERTS, J.M.J.; BOLS, P.E.J. Ovarian follicular dynamics: a review with emphasis on the bovine species. Part II: Antral development, exogenous influence and future prospects. **Reproduction in Domestic Animals**, v.45, p.180-187, 2010.
- ALVAREZ, R.H.; ARCARO, J.R.P.; MASCHIO, W. Inseminação artificial em tempo prefixado em rebanho holandês. Ineficiência do tratamento "ovsynch". **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.23, p.326-328, 1999.
- ALVAREZ, R.H.; MARTINEZ, A.C.; CARVALHO, J.B.P.; ARCARO, J.R.P.; PIRES, R.M.L.; OLIVEIRA, C.A. Eficácia do tratamento Ovsynch associado à

inseminação artificial prefixado em rebanhos *Bos taurus* e *Bos indicus*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 2, p. 317-323, 2003.

ALMEIDA, S.E.M.; ALMEIDA, E.A.; TERRA, G.; NEVES, J.P.; GONÇALVES, P.B.D.; WEIMER, T.A. Association between molecular markers linked to the Leptin gene and weight gain in postpartum beef cows. **Ciência Rural**, v.37, p.206-211, 2007.

AMBROSE, D. J.; KASTELIC, J.P.; B, RAJAMAHENDRAN, R.; AALI, M. DINN, N. Pregnancy rates after CIDR based timed A.I. using GnRH or estradiol cypionate in dairy heifers. **Theriogenology**, v.61, p.1115-1124, 2004.

ANDERSON, L.H.; MCDOWELL, C.M.; DAY, M.L. Progestin-induced puberty and secretion of luteinizing hormone in heifers. **Biology of Reproduction**, v.54, p.1025-1031, 1996.

ANDRADE, B.H.A.; Comparação entre diferentes indutores da ovulação e do momento da inseminação artificial sobre a taxa de concepção de vacas inseminadas em tempo fixo / **Dissertação (mestrado)** - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2012.

ASBIA, Associação Brasileira de Inseminação Artificial. **Index ASBIA Mercado 2014**. Uberaba, MG, 2015 Disponível em: <http://www.asbia.org.br/novo/upload/mercado/index2014.pdf>. acessado em set/2015

AYRES, H; PENTEADO, L.; TORRES-JÚNIOR. J.R.; SOUZA, A.H. ; BARUSELLI, P.S. Taxa de concepção de vacas nelore lactantes sincronizadas com implante auricular de progestágeno associado ao benzoato ou ao cipionato de estradiol. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE EMBRIÕES, XX. Angra dos Reis. **Anais...**, p. 410. 2006.

AX, R.L.; DALLY, M.R.; DIDION, B.A.; LENZ, R.W.; LOVE, C.C.; VARNER, D.D.; HAFEZ, B.; BELLIN, M.E. Inseminação Artificial, In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. **Reprodução Animal**. Manole, 7 ed. Barueri, SP. 2004.

BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.; FIGUEIREDO, R.A.; TEIXEIRA, A.B.; TRINCA, L.A. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF₂alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**. v.15, p.1121-34, 2000.

BARROS, C.M.; ERENO, R.L. Avanços em tratamentos hormonais para a inseminação artificial com tempo fixo (IATF) em bovinos de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32 (Supl), p. 23-34. 2004.

BARUSELLI P.S.; JACOMINI, J.O.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Importância do emprego da eCG em protocolos de sincronização para IA, TE e SOV em tempo fixo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 3, 2008, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: SIRAA, p.146-167. 2008.

BARUSELLI, P.S.; MUCCIOLO, R.G.; VISINTIN, J.A. VIANA, W.G.; ARRUDA, R.P.; MADUREIRA, E.H.; OLIVEIRA, C.A.; MOLERO-FILHO, J.R. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). **Theriogenology**, v.47, p.1531-1547, 1997.

BARUSELLI, P.S.; GIMENES, L.U.; SALES, J.N.S. Fisiologia reprodutiva de fêmeas taurinas e zebuínas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n. 2, p.205- 211, 2007.

BARUSELLI, P. S.; AYRES, H.; SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; GIMENES, L. U.; TORRES-JÚNIOR, J. R. S. Impacto da IATF na eficiência reprodutiva em bovinos de corte. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 2, 2006, Londrina, PR. **Anais...**: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, v.1, p.113-132. 2006

BARUSELLI, P. S.; MARQUES, M. O.; CARVALHO, N. A. T.; MADUREIRA, E. H.; CAMPOS FILHO, E. P. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.26, n.3, p.218-221, 2002.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, p. 479–486, 2004a.

BARUSELLI, P. S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O. Técnicas de manejo para otimizar a eficiência reprodutiva em fêmeas *bos indicus*. In: SIMPÓSIO DA 41ª REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais....** p. 447-458, 2004b.

BARUSELLI P.S.; MARQUES, M.O.; MADUREIRA, E.H.; COSTA NETO, W.P.; GRANDINETTI, R.R.; BÓ, G.A. Ovarian superovulation in embryo recipients to improve the number of corpus luteum, progesterone concentration and pregnancy rates. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.28, p.218, 2000.Resumo.

BARUSELLI, P.S.; SALES, J.S.N.; SALA, R.V.; VIEIRA, L.M.; SÁ FILHO, M.F. Evolution and perspectives of timed artificial insemination programs in Brazil. **Animal Reproduction**, v.9, p.139-152, 2012.

BARUSELLI, P.S.; MARQUES M.O.; NASSER, L.F.; REIS, E.L.; BO, G.A. Effect of eCG on pregnancy rates of lactating zebu beef cows treated with CIDR-B devices for timed artificial insemination. **Theriogenology**, v.59, p.214, 2003.

BINELLI, M.; PORTELA, V.; MURPHY, B. Dinâmica ovariana e eficiência reprodutiva: estado da arte. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, n. 6, p. 134-139, 2009.

BO, G. A.; CUTAIA, L.; TRIBULO, R. Tratamientos hormonales para inseminación artificial a tiempo fijo en bovinos para carne: algunas experiencias realizadas en Argentina. Primera Parte. **Taurus**, v.14, p.10–21, 2002.

BÓ, G. A.; CUTAIA, I.; BARUSELLI, P. S. Programas de inseminación artificial y transferencia de embriones a tiempo fijo. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA, 1º, 2004, **Anais...** São Paulo: FMZU - USP, p. 56-80. 2004

BÓ, G.A . BARUSELLI, P.S.; MARTÍNEZ, M.F. Pattern and manipulation of follicular development in *Bos indicus* cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 78, n. 3, p. 307-326, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), **Instituto Nacional de Meteorologia – INMET**. Brasília, DF, 2015

BROWN, P.; MCNEILLY A.S. Transcriptional regulation of pituitary gonadotrophin subunit genes. **Reviews of Reproduction**, v.4, p.117-124, 1999.

BORCHERSEN, S.; PEACOCK, M. Danish A.I. field data with sexed semen. **Theriogenology**, v. 71, p. 59-63, Jan, 2009.

CARVALHO, J.B.P. CARVALHO, N.A.T.; REIS, E.L.; NICHI, M.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* x *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.167-175, 2008.

CAVALIERI, J.; COLEMAN, C.; RODRIGUES, H.; MACMILLAN, K. L.; FITZPATRICK, L.A. The effect of timing of administration of oestradiol benzoate on characteristics of oestrus, timing of ovulation and fertility in *Bos indicus* heifers synchronised with a progesterone releasing intravaginal insert. **Australian Veterinary Journal**, v. 80, p. 217-223, 2002.

CBRA - Manual para exame andrológico e avaliação de sêmen animal. Colégio Brasileiro de Reprodução Animal. Organizado por Marc Henry, Jairo Pereira e Maria Inês Mascarenhas. 3ª ed. Belo Horizonte, CBRA, 2013

CERRI, R. L. A.; CHEBEL, R.C.; RIVERA, F.; NARCISO, C.D.; OLIVEIRA, R. A.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J.E.P. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: I. Ovarian and embryonic responses. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 463. 2011.

CORMIER, M.; SIRARD, M. A.; BAILEY, J. L. Premature capacitation of bovine spermatozoa is initiated by cryopreservation. **Journal of Andrology**. v. 18, n. 4, p. 461-468. 1997

CREPALDI, G. A. Eficácia de diferentes protocolos de indução da ovulação e de intervalo da inseminação em vacas de corte submetidas à IATF. 87 f., **Dissertação** (Mestrado em Reprodução Animal). Faculdade de Medicina

Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

DEJARNETTE, J. M.; NEBEL, R. L.; MARSHALL, C. E.; MORENO, J. F.; MCCLEARY, C. R.; LENZ, R. W. Effect of Sex-Sorted Sperm Dosage on Conception Rates in Holstein Heifers and Lactating Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p. 1778-1785, 2008.

DOROTEU, E.M.; OLIVEIRA, R.A.; PIVATO, I. Avaliação de diferentes doses de eCG nas taxas de prenhez em vacas Nelore lactantes resincronizadas e submetidas à IATF. **Animal Reproduction**, v.11, p.351, 2014.

DRIANCOURT, M.A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. **Theriogenology**, v.55, p.1211-1239, 2001.

FARNWORTH, P.G. Gonadotrophin secretion revised – how many ways can FSH leave a gonadotroph. **Journal of Endocrinology**, v.145, p.387-395, 1995.

FERRAZ, P. A.; RODRIGUES, A. S.; LOIOLA, M. V. G.; LIMA, M. C. C.; BITTENCOURT, T. C. B. dos S. C.; RIBEIRO FILHO, A. de L. Dinâmica folicular e taxa de concepção de vacas nelore sincronizadas com diferentes protocolos de indução da ovulação. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.4, p.31-39, 2013

FERNANDES, P.; TEIXEIRA, A.B.; CROCCI, L.A.J.; BARROS, C.M. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist PGF2alpha and estradiol benzoate. **Theriogenology**, v.55, p.1521–1532. 2001.

FORTUNE, J. E.; SIROIS, J.; TURZILLO, A. M. Follicle selection in domestic ruminants. **Journal Reproduction Fertility**, (Suppl), n.43, p. 187-198, 1991.

GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; DONADEU, F.X. BERGFELT, D.R. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Animal Reproduction Science**, v.78, p.239-257, 2003.

GODOY, M.M.; ALVES, J.B.; MONTEIRO, A.L.G; VALÉRIO FILHO, W.V. Parâmetros Reprodutivo e Metabólico de Vacas da Raça Guzerá Suplementadas no Pré e Pós-Parto. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.1, p.103-111, 2004

GOTTSCHALL, C.S.; ALMEIDA, M.R.; TOLOTTI, F.; MAGERO, J.; BITTENCOURT, H.R.; MATTOS, R.C.; GREGORY, R.M. Avaliação do desempenho reprodutivo de vacas de corte lactantes submetidas à IATF a partir da aplicação do GnRH, da manifestação estral, da reutilização de dispositivos. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40(1), p. 1012. 2012.

GOTTSCHALL, C.S.; FERREIRA, E.T.; CANELLAS, L; BITTENCOURT, H.R. The reproductive performance of beef cows of different ages with calves weaned at three or seven months. **Animal Reproduction**, v.4, p.42-45. 2007.

GUTIÉRREZ-ADÁN, A.; PÉREZ-GARNELO; GRANADOS, J.; GARDE, J. J.; PÉREZ-GUZMÁN, M.; PINTADO B.; DE LA FUENTE, J. Relationship between sex ratio and time of insemination according to both time of ovulation and maturational state of oocyte. **Zygote**, v. 7, p. 37–43. Feb. 1999.

IMEA, Intituto Mato-Grossense de Economia Agropecuária. **Net**. Disponível em: http://www.imea.com.br/upload/publicacoes/arquivos/2015_10_R102_3_LEVANTAMENTO_DAS_INTENCOES_DE_CONFINAMENTO_EM_2015.pdf acessado em nov. 2015

JOHNSON, L. A.; FLOOK, J. P.; HAWK, H. W. Sex preselection in rabbits: live births X and Y sperm separation by DNA and cell sorting. **Biology of Reproduction**, v. 41, n. 2, p. 199-203, 1989.

NEVES, J.P. MIRANDA, K.L.; TORTORELLA, R.D. Progresso Científico em reprodução na primeira década do século XXI. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.414-421, 2010

KINDER, J.E. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. **Journal of Reproduction and Fertility Suppl**, n.34, p.167-186, 1987.

LAMB, C. G. Sincronização do estro utilizando CIDR e GnRH. In: VIII Curso Novos enfoques na produção e reprodução de bovinos. **Anais...** Uberlândia-MG, p. 215-224, 2004.

LAMOTHE-ZAVALETA, C. FREDRIKSSON, G.; KINDAHL, H. Reproductive performance of zebu cattle in Mexico. 1-Sexual behavior and seasonal influence on cious cyclicity. **Theriogenology**, Stonehan, v.36, p.887-896, 1991.

LOBATO, J.F.P. Sistemas intensivos de produção de carne bovina: I. Cria. In: SIMPÓSIO SOBRE PECUÁRIA DE CORTE. 4. Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, p.161-204, 1997.

LUCY, M.C. et al. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. **Journal of Animal Science**, v.70, p.3615-3626, 2014.

LU, K. H.; SEIDEL, G. E. Effects of heparin and sperm concentration on cleavage and blastocyst development rates of bovine oocytes inseminated with flow cytometrically-sorted sperm. **Theriogenology**. v. 62, p. 819-830. 2004.

MAATJE, K.; LOEFFLER, S.H.; ENGEL, B. Predicting optimal time of insemination in cows that show visual signs of estrus by estimating onset of estrus with pedometers. **Journal Dairy Science**, Champaign, v.80, p.1098-1105, 1997.

MADUREIRA, E. H. Controle Farmacológico do ciclo estral com emprego de Progesterona e Progestágenos em bovinos. In: MARQUES, M. O. **Controle farmacológico do ciclo estral em ruminantes**. São Paulo: Fundação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, 2000. cap. 4, p. 89-98.

MADUREIRA, E. H.; BARUF, F. B. **Sincronização do cio com prostaglandina**. Beefpoint.com.br. Disponível em: <http://www.beefpoint.com.br/radares-tecnicos/reproducao/sincronizacao-do-cio-com-prostaglandina-parte-iii-5025/>. 2000

MADUREIRA, E.H.; MATURANA FILHO, M. Avanços Tecnológicos no Emprego de Fármacos para controle da reprodução de Fêmeas Bovinas Destinadas à IATF. In: VIII SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE IV SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE. **Anais..** 2012

MADUREIRA, E. H.; ROSSA, L. A. F.; BARUSELLI, P. S.; BINELLI, M.; MARQUES, M. O. Planejamento da reprodução em rebanhos bovinos. In: II SIMPÓSIO PARANAENSE DE ATUALIZAÇÃO EM REPRODUÇÃO ANIMAL. **Anais...** Londrina, 2002.

MAPLETOFT, R. J.; BÓ, G. A.; ADAMS, G. P. Advances in the manipulation of donor and recipient estrus cycles in bovine embryo transfer programs. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v. 28, p. 23-48, 2000.

MARQUES, M.O.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; FIGUEIREDO, T.B.; SORIA GF, BARUSELLI PS. Efeito do tratamento com PGF2 α na inserção e/ou tratamento com eCG na remoção do dispositivo intravaginal de progesterona na taxa de concepção à inseminação artificial em tempo fixo em novilhas Nelore. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.1, p.287, 2005.

MARTINS, F.S. SILVA, J.R.V.; RODRIGUES, A.P.R.; FIGUEREDO, J.R. Fatores reguladores da foliculogênese em mamíferos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.32, n.1, p.36-49, jan./mar. 2008.

MARTINEZ, M.; KASTELIC, J.P.; BÓ, G.A.; CACCIA, M.; MAPLETOFT, R.J. Effects of oestradiol and some of this esters on gonadotrophin releasing and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 86, p. 37–52. 2005

MARTINEZ, F.; KAABI, M.; MARTINEZ-PASTOR, F.; ALVAREZ, M.; ANEL, E.; BOIXO, J. C.; DE PAZ, P.; ANEL, L. Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. **Theriogenology**, v. 62, p. 1264–1270. 2004.

MARTINS, C. M. CASTRICINI, E.S.C.; SÁ FILHO, M.F.; GIMENES, L.U.; BARUSELLI, P.S. Dinâmica folicular de vacas nelore tratadas com Cipionato ou Benzoato de estradiol em protocolos de inseminação artificial em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, p. 285. 2010. Resumo.

MCCULLAGH, P.; NELDER, J.A. **Generalized Linear Models**. 1989.

MELO, C.L.; BESKOW, A.; COSTA E SILVA, B.V.; EVANGELISTA, G.T.; GREGORY, J.W.; MARQUES, P.R.; JOBIM, M.I.M; MATTOS, R.C.; GREGORY, R.M. Dinâmica folicular de vacas de corte tratadas com três

protocolos de sincronização da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**. 38(4): 385-390, 2010.

MENEGHETTI, M.; MIGUEL JR, J.C. Adição de eCG em Protocolo de Inseminação Artificial em Tempo Fixo na Taxa de Concepção de novilhas Nelore Ciclando. **Acta Scientiae Veterinariae** , v.36. p.638, 2008.

MIHM, M.; BAKER, P.J.; IRELAND, J.L.H.; SMITH, G.W.; COUSSENS, P.M.; EVANS, A.C.O.; IRELAND, J.J. Molecular evidence that growth of dominant follicles involves a reduction in follicle-stimulating hormone dependence and an increase in luteinizing hormone dependence in cattle. **Biology of Reproduction**, v.74, p.1051-1059, 2006.

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*), Angus (*Bos taurus taurus*) e NelorexAngus (*Bos taurus indicus* x *Bos taurus taurus*). 2003. 98f. **Tese** (doutorado em Reprodução Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D. Controle do estro e da ovulação em bovinos e ovinos. In: **Biotécnicas aplicadas à reprodução animal**. São Paulo: Ed Varela, cap. 3, p. 25-55. 2002.

MORAN, C.; QUIRKE, J.F.; ROCHE, J.F. Puberty in heifers: a review. **Animal Reproduction Science**, v.18, p.167- 182, 1989.

MURTA, J.E.J.; ANDRADE, V. J.; VALE FILHO, V. R.; RIBAS, R. A. Eficiência do protocolo Crestar® na taxa de prenhez de vacas de corte inseminadas artificialmente em horário fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 25, n. 3, p. 302-304, 2001.

NAKADA, K.; ISHIKAWA, Y.; NAKAO, T.; SAWAMUKAI, Y. Changes in response to GnRH on luteinizing hormone and follicle stimulating hormone secretion in prepubertal heifers. **Journal of Reproduction and Development**, v.48, p.545-551, 2002.

ODDE, K. G. A review of synchronization of estrus in post-partum cattle. **Journal Animal Science**, v. 68, p. 817-30, 1990.

PANCARCI, S.M. JORDAN, E.R.; RISCO, C.A.; SCHOUTEN, M.J.; LOPES, F.L.; MOREIRA, F.; THATCHER, W.W. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.122-131. 2002.

PINHEIRO, O.L.; BARROS, C.M.; FIGUEIREDO, R.A.; VALLE, E.R.; ENCARNAÇÃO, R.O.; PADOVANI, C.R. Estrous behavior and the estrus-to-ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F_{2α} or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v.49, n. 3, p. 667-681, 1998.

PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. **Theriogenology**, v. 44, n. 7, p. 915-923, 1995.

PURSLEY, J.R.; WILTBANK, M.C.; STEVENSON, J.S.; OTTOBRE, J.S.; GARVERICK, H.A.; ANDERSON, L.L. 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.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015. URL <http://www.R-project.org/>.

RAIMUNDO, I.S. O Efeito de Alguns Factores na Eficiência da Inseminação Artificial em Tempo Fixo em Bovinos de Carne. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade de Lisboa, Faculdade de medicina Veterinária. Lisboa. 2014

RIBEIRO, H.F.L. PANTOJA, C.; SILVA, M.C.; SOUSA, J.S.; SILVA, A.O.A.; REIS, A.N. Taxa de prenhez em novilhas selecionadas por escore ovariano, submetidas a inseminação artificial com tempo pré-fixado, sincronizadas pelo protocolo "Ovsynch". **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 25, n. 1, p. 292-294, 2001.

RIBEIRO FILHO, A. de L.; FERRAZ, P.A.; RODRIGUES, A.S.; BITTENCOURT, T.C.B. DOS S.C.; LOIOLA, M.V.G.; CHALHOUB, M. Diâmetro do Folículo no Momento da Inseminação Artificial em tempo Fixo e a Taxa de Concepção em vacas nelore. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v.14, n.4, p. 501-507, out./dez. 2013

RIBEIRO FILHO, A. de L.; PORTELA, A. P. M.; CHALHOUB, M.; QUINTELA, A. T.; BITTENCOURT, R. F.; OLIVEIRA, J. V.; GUSMÃO, A. L.; VALE FILHO, V. R. Desempenho reprodutivo de vacas zebus, submetidas à prévia classificação reprodutiva e sincronizadas com diferentes protocolos para inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.26, n.3, p.221-223, 2002.

ROCHA, J.M.; RABELO, M.C.; SANTOS, M.H.B.; MACHADO, P.P.; BARTOLOMEU, C.C.; NEVES, J.P.; LIMA, P.F.; OLIVEIRA, M.A.L. IATF em vacas Nelore: avaliação de duas doses de eCG e reutilização de implantes intravaginais de progesterona. **Medicina Veterinária**, v.1, p.40-47, 2007.

ROCHE, J.F.; BOLAND, M.P. Turnover of dominant follicle in cattle of different reproductive stage. **Theriogenology**, v.35, p.81-90, 1991.

RODRIGUES, C.A.; AYRES, H.; REIS, E.L.; MADUREIRA, E.H.; BARUSELLI, P.S. Aumento da taxa de prenhez em vacas Nelore inseminadas em tempo fixo com uso de eCG em diferentes períodos pós-parto. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.32, p.220, 2004.

ROELOFS, J. B.; BOUWMANA, E. B.; PEDERSEN, H. G.; RASMUSSEN, Z. R.; SOEDE, N. M.; THOMSENC, P. D.; KEMPA, B. Effect of time of artificial insemination on embryo sex ratio in dairy cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 93, p. 366–371. 2006a.

ROELOFS, J.B.; GRAAT, E.A. M.; MULLAART, E.; SOEDE, N.M.; VOSKAMP-HARKEMA, W.; KEMP, B. Effects of insemination–ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 66, n. 9, p. 2173-2181, 2006b.

RORIE, R. W.; LESTER, T. D.; LINDSEY, B. R.; MCNEW, R.W. Effect of timing of artificial insemination on gender ratio in beef cattle. **Theriogenology**, v. 52, p. 1035-1041, 1999.

ROSSA, L. Sincronização da ovulação por eCG ou benzoato de estradiol em vacas de corte tratadas com Crestar no período pós parto. 2002. 80 p. **Dissertação** (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

SÁ FILHO, M. F. et al. IATF em Novilhas. In: 3º SIRAA (SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA), **Anais...** Londrina, 2008.

SÁ FILHO, M.F.; MENEGHETTI, M.; PERES, R.F.G.; LAMB, G.C.; VASCONCELOS, J.L.M. Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows. II: strategies and factors affecting fertility. **Theriogenology**, v.72, p.210-218, 2009.

SÁ FILHO, M.F.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; SILVA, R.C.P.; RODRIGUES, C.A.; MADUREIRA, E.H.; BÓ, G.A.; BARUSELLI, P.S. Equine chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone enhance fertility in a norgestomet-based, timed artificial insemination protocol in suckled Nellore (*Bos indicus*) cows. **Theriogenology**, v.73, p.651-658, 2010a.

SÁ FILHO, M.F. TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; PENTEADO, L.; GIMENES, L.U.; FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; CASTRO E PAULA, L.A.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. Equine chorionic gonadotropin improves the efficacy of a progestin-based fixed-time artificial insemination protocol in Nellore (*Bos indicus*) heifers. **Animal Reproduction Scientiae**, v.118, p.182-187, 2010b.

SÁ FILHO, M.F.; REIS, E.L.; AYRES, H.; GIMENES, L.U.; PERES, A.A.C.; CARVALHO, C.A.B.; CARVALHO, J.B.; ARAÚJO, C.A.S.C.; BARUSELLI, P.S. Effect of estradiol valerate or benzoate on induction of a new follicular wave emergence in *Bos indicus* cows and heifers treated with norgestomet auricular implant. **Reproduction Fertility and Development**, v. 18, p. 289, 2006.

SÁ FILHO, M. F.; AYRES, H.; FERREIRA, R. M.; NICHI, M.; FOSADO M.; CAMPOS FILHO, E. P.; BARUSELLI, O. S. Strategies to improve pregnancy per insemination using sexed semen in dairy heifers detected in estrus **Theriogenology** v. 74, n. 9, p. 1636-1642, 2010

SÁ FILHO, M. F.; GIROTTO, R.; ABE, E. K.; PENTEADO, L.; CAMPOS FILHO, E. P.; MORENO, J. F.; SALA, R. V.; NICHI, M.; BARUSELLI, P. S. Optimizing the use of sex-sorted sperm in timed artificial insemination programs for suckled beef cows. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 1816-1823. 2012

SALES, J. N. S.; NEVES, K. A. L.; SOUZA, A. H.; CREPALDI, G. A.; SALA, R. V.; FOSADO, M.; CAMPOS FILHO, E.P.; FARIA, M.; SÁ FILHO, M. F.; BARUSELLI, P. S. Timing of insemination and fertility in dairy and beef cattle receiving timed artificial insemination using sex-sorted sperm. **Theriogenology**, v. 76, p. 427–435. 2011

SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A.; GIROTTO, R.W.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Fixed-time AI protocols replacing eCG with a single dose of FSH were less effective in stimulating follicular growth, ovulation, and fertility in suckled anestrous Nelore beef cows. **Animal Reproduction Scientiae**, v.124, p.12-18, 2011.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 2. ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia (FEPMVZ), 1998. 221p.

SANTOS, R.M.; VASCONCELOS, J.L.M.; PEREZ, G.C.; SÁ FILHO, O.G.; MACIEL, A.B.B. Concentração sérica de progesterona em novilhas cruzadas Nelore/Angus tratadas com diferentes dispositivos intravaginais de progesterona. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 217. 2004

SEIDEL JR, G. E. Economics of selecting for sex: the most important genetic trait. **Theriogenology**, v. 59, p.585-598, 2003.

SEIDEL JR, G. E.; SCHENK, J. L.; HERICKHOFF, L. A.; DOYLE, S. P.; BRINK, Z.; GREEN, R. D.; CRAN, D. G. Insemination of heifers with sexed sperm. **Theriogenology**, v.52, p.1407-1420, 1999.

SEIDEL JR, G. E.; SCHENK, J. L. Pregnancy rates in cattle with cryopreserved sexed sperm: effects of sperm numbers per inseminate and site of sperm deposition. **Animal Reproduction Science**, v. 105, p. 129–138. 2008.

SILVA, A. E. F.; DIAS, M. J.; DIAS, D. S. O.; DUARTE, J. B.; ANDRADE, J. R. A. Influência do momento da inseminação artificial sobre a fertilidade e o sexo da cria de novilhas da raça Nelore. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 997-1003, out./dez. 2008.

SIROIS, J.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. **Biology of Reproduction**, v.39, p.308-317, 1988.

SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.C.; LOGUÉRCIO, R.S.; LÖF, H.K.; GONÇALVES, P.B.D Sistemas de inseminação artificial em dois dias com

observação de estro ou em tempo fixo para vacas de corte amamentando. **Ciência Rural**, v.38, n.2, mar.-abr., 2008.

SOTO BELLOSO, MARTÍNEZ, G.P.; ONDIZ, A.; ROJAS, N.; SOTO CASTILLO, G.; IGLESIA, L.R.; GANCHOU, F.P. Improvement of reproductive performance in crossbred zebu anestrous primiparous cows by treatment with norgestomet implants or 96h calf removal. **Theriogenology**, v.57, p.1503-1510, 2002.

SOUZA, A.H. VIECHNIESKI, S.; LIMA, F.A.; SILVA, F.F.; ARAÚJO, R.; BÓ, G.A.; WILTBANK, M.C.; BARUSELLI, P.S. Effects of equine chorionic gonadotropin and type of ovulatory stimulus in a timed-AI protocol on reproductive responses in dairy cows. **Theriogenology**, v.72, p.10-21, 2009.

SOUZA, A.H.D. Inseminação artificial em tempo fixo em vacas de alta produção.. 152 p. **Tese** (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade de São Paulo, São Paulo. 2008.

SOUZA, E.M.; MILAGRES, J.C.; SILVA, M. DE A.; REGAZZI, A.J.; CASTRO, A.C.G. Influências genéticas e de meio ambiente sobre a idade ao primeiro parto em rebanhos de Gir leiteiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v. 24, n. 6, p. 926-935, 1995.

SOUZA, A. H.; MARTINS, C. M.; TORRES-JR, J. R.; AYRES, H.; BARUSELLI, P. S. Efeito do eCG e do cipionato de estradiol em protocolos para inseminação artificial em tempo fixo em vacas Holandesas de alta produção. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.34, p.404, 2006

TOWNSON, D.H.; TSANG, P.C.; BUTLER, W.R. FRAJBLAT, M.; GRIEL JR, L.C.; JOHNSON, C.J.; MILVAE, R.A.; NIKSIC, G.M.; PATE, J.L. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. **Journal of Animal Science**, v.80, p.1053-1058, 2002.

TRIMBERGER, G. W. Breeding and efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. **Nebraska Univ. Agricultural Experiment Station**, Research Bulletin, n. 153, 26p, 1948.

VALLE, E. R. do. O ciclo estral de bovinos e métodos de controle. Campo Grande-MS: **Embrapa**, 1991. 24p.

VAN DEN HURK, R.; ZHAO, J. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. **Theriogenology**, v.63, p.1717-1751, 2005.

VERBERCKMOES, S.; VAN SOOM, A.; DE KRUIF, A. Intra-uterine insemination in farm animals and humans. **Reproduction in Domestic Animals. Zuchthygiene**, 39(3), 195– 204. 2004.

WECKER, F.; THEDY, D.X.; GONSIOROSKI, A.V.; BORGES, J.B.S. Efeito da aplicação de eCG ou hCG 7 dias após a IATF no desenvolvimento das

estruturas ovarianas e nas taxas de prenhez de vacas de corte. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.40, p.1072, 2012.

WEIGEL, K. A. Exploring the Role of Sexed Semen in Dairy Production Systems. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 120–130, Jul 2004.

WILTBANK, M.C.; GÜMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. **Theriogenology**, New York, v.57, n.1, p.21-53, 2002.

WILTBANK, M.C.; PURSLEY, J.R. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. **Theriogenology**, v.81, p.170–185, 2014.

WILTBANK, J. N.; KASSON, C. W. Synchronization of estrus in cattle with an oral Progestational agent and an injection of an estrogen. **Journal of Animal Science**, v. 27, p. 113, 1968.

WILTBANK, J.N.; ROBERTS, S.; NIX, J.; ROWDEN, L. Reproductive performance and profitability of heifers fed to weigh 272 or 318 kg at the start of the first breeding season. **Journal of Animal Science**, v.60, p. 25-34, 1985.

YAVAS, Y. JOHNSON, W.H.; WALTON, J.S. Modification of follicular dynamics by exogenous FSH and progesterone, and the induction of ovulation using hCG in postpartum beef cows. **Theriogenology**, v. 52, n. 6, p. 949-963, 1999.

YEE, T.W.; WILD, C.J. Vector generalized additive models. **Journal of Royal Statistical Society**, Series B, 58:481–493, 1996.