

# ADILSON QUEVEDO DO NASCIMENTO

# INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM USO DE UMA OU DUAS DOSES DE SÊMEN EM VACAS HOLANDESAS

# ADILSON QUEVEDO DO NASCIMENTO

# INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM USO DE UMA OU DUAS DOSES DE SÊMEN EM VACAS HOLANDESAS

Monografia apresentada ao curso de Especialização em Produção Animal na Universidade Federal do Pampa-Campus Dom Pedrito, como requisito parcial ao grau de Especialista.

Orientadora: Profa. Dra Adriana Neves

# ADILSON QUEVEDO DO NASCIMENTO

# INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO COM USO DE UMA OU DUAS DOSES DE SÊMEN EM VACAS HOLANDESAS

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Especialista em Produção Animal, Universidade Federal do Pampa - Dom Pedrito.

| Banca Examinadora:   |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  |  |  |  |
| Prof. Dr. Eduardo Brum Schwengber – UNIPAMPA                         |  |  |  |
| _  |  |  |  |
|  |  |  |  |
| Prof <sup>a</sup> . Dra. Mylene Muller – UNIPAMPA                    |  |  |  |
| ·  |  |  |  |
|  |  |  |  |
| Orientadora: Prof <sup>a</sup> . Dra. Adriana Pires Neves – UNIPAMPA |  |  |  |

Dedico este trabalho, em especial aos meus sobrinhos Nauel, Sofia e Maria Julia que acaba de chegar ao mundo, nesse mês de junho.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, Minha família, meus amigos, minha noiva, e a professora Adriana Pires Neves e em especial aos proprietários da granja Durasnal.

A Deus pela vida e pela família que me deste, pela vocação de dedicar-me aos animais de produção tratando e respeitando-os como seres vivos que são.

A minha família pelo empenho e incentivo a mim dedicado, em especial a minha mãe Margarete, a minha avó materna Therezinha e a minha madrinha Marli pelo amor e incentivo. Aos meus irmãos e amigos Emerson, Ana Paula e Ana Cláudia e em especial Anderson, o qual me informou e incentivou para que realizasse esta especialização. Aos amigos da Agroveterinária Barraca Missões que sempre me indicaram e indicam aos produtores de São Borja e região no atendimento para com os animais de produção, com isto possibilitando que tivesse remuneração para as despesas da viajem, de São Borja a Dom Pedrito, e hospedagem, bem como aos meus amigos que acompanharam todas as fases da minha vida até aqui: Diogo, Rafael (Negão), Diego (Pança), Fernando, Leandro Sauer, Bruno, Rodrigo, Valder, Tiago e em especial Cleberson (Papagaio) o qual considero um irmão.

Também agradeço a professora Adriana P. Neves que aceitou o convite para ser minha orientadora, ajudando-me nesta reta final da especialização.

Agradeço em especial a uma grande pessoa que é muito importante para mim, minha noiva Gilnara, que soube aceitar minhas ausências, ajudou a superar minhas angustias e deu-me muita ajuda e força para escrever este trabalho.

Agradeço em especial aos proprietários da granja Durasnal: Ana Maria Aquino Nunes, Jorge Nunes Aquino. Os quais desde 2010 acompanho os assistindo no tambo leiteiro, agradeço pela amizade, confiança depositada e também pela troca de experiências e incentivo na busca de tecnologias para que juntos possamos trabalhar por melhores resultados, tanto em questões de produtividade, bem como na busca de um maior conforto para os animais (as flores de dona Ana, por que todas levam o nome de uma flor).

#### **RESUMO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar a percentagem de prenhez alcançada em vacas da raça Holandesa, em lactação, com Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF), com uso de uma ou duas doses de sêmen nas vacas que manifestaram estro entre a retirada do dispositivo e a IATF. Dois lotes de vacas foram sincronizadas: um com uso de uma dose de sêmen (Grupo I), outro com duas doses(Grupo II). Ambos os lotes receberam no primeiro dia (dia 0) o Dispositivo Intravaginal de Progesterona (DIP), e 2 ml de Benzoato de Estradiol, no dia 8 foi removido o DIP, e aplicado 400UI de Gonadotrofina Coriônica Equina (ECG) e 2ml de Prostaglandina F2α, e no dia 10: 1ml de Hormônio Liberador de Gonadotrofinas (GNRH) nas vacas que não manifestaram estro. Estes três manejos (dias 0, 8,10) foram realizados ás 7 horas da manha, e a inseminação artificial às 15:00 horas. No grupo dois foi detectado o estro, e as vacas que apresentaram cio, foram inseminadas 12 hs após (primeira dose). A segunda dose (do grupo 2) foi aplicada na hora programada para IATF. No diagnóstico de gestação observou-se 41% de prenhez para o grupo I, e 62% de prenhez para o grupo II. Conclui-se que não houve significância estatística no trabalho realizado.

Palavras-chave: Inseminação. Sêmen. Prenhez. Vacas Holandesas.

#### **ABSTRACT**

Tha aim of this work was to evaluate the pregnancy rate of Holstein cows, in lactation, with Artificial Insemination in Fixed Time (AIFT), using two semen pailletes at cows that manifested estrus between withdrawal of PRID and the AIFT itself. Two groups of cows were synchronized: the first (Group I), was inseminated with one paillette; the second (Group II) was inseminated with two. Both groups received at the first day (day 0) the Progesterone Intravaginal Device (PRID), and 2 ml of Estradiol Benzoate. On the 8th day the PRID was removed, and 400 IU of Equine Chorionic Gonadotropin (ECG) and 2ml of Prostaglandin F2 $\alpha$  were applied, and on day10: 1ml of gonadotrophin releasing hormone (GnRH) in cows that did not exhibit estrus. These three managements (days 0, 8, 10) were performed at 7 o'clock in the morning, and the AIFT itself was performed on the 10th at 15:00 pm. On Group 2, animals were monitored for detection of estrus and insemination 12 hours after, and the second dose at programmed time for AIFT. In the pregnancy diagnostic it was obtained 41% pregnancy rate for Group I, and 62% for Group II. It can be concluded that there was no statistical difference between treatments.

Keywords: Insemination; Semen; Pregnancy; Holstein Cows.

#### LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UNIPAMPA – Universidade Federal do Pampa

°C – Grau Celsius

CL – Corpo Lúteo

Cm - Centímetro

DIP – Dispositivo Intravaginal de Progesterona

ECG – Gonadotrofina Coriônica Equina

FSH – Hormônio Folículo Estimulante

GNRH – Hormônio Liberador de Gonadotrofinas

IA – Inseminação Artificial

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFN-T – Interferon- Tau

Kg – quilograma

LH – Hormônio Luteinizante

mL- milititros

 $PGF2\alpha-Prostaglandina \\$ 

UI – Unidades Internacionais

# SUMÁRIO

| 2 REVISÃO DA LITERATURA 2.1 Ciclo Estral 2.2 Foliculogênese 2.3 Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos 3 RELAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E MANEJO X FERTILIDADE 4 TRATAMENTO HORMONAL 5 JUSTIFICATIVA 6 MATERIAIS E MÉTODOS 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO 8 CONCLUSÃO | 1 INTRODUÇÃO                                       | 10 |
|---|--|----|
| 2.2 Foliculogênese 2.3 Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos 3 RELAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E MANEJO X FERTILIDADE 4 TRATAMENTO HORMONAL 5 JUSTIFICATIVA 6 MATERIAIS E MÉTODOS 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO 8 CONCLUSÃO  |  |    |
| 2.3 Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos  3 RELAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E MANEJO X FERTILIDADE  4 TRATAMENTO HORMONAL  5 JUSTIFICATIVA  6 MATERIAIS E MÉTODOS  7 RESULTADOS E DISCUSSÃO  8 CONCLUSÃO   | 2.1 Ciclo Estral                                   | 12 |
| 3 RELAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E MANEJO X FERTILIDADE  | 2.2 Foliculogênese                                 | 13 |
| 4 TRATAMENTO HORMONAL   | 2.3 Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos          | 14 |
| 5 JUSTIFICATIVA   | 3 RELAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E MANEJO X FERTILIDADE | 17 |
| 6 MATERIAIS E MÉTODOS   | 4 TRATAMENTO HORMONAL                              | 19 |
| 6 MATERIAIS E MÉTODOS   | 5 JUSTIFICATIVA                                    | 21 |
| 8 CONCLUSÃO   |  |    |
|   | 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO                           | 24 |
| ^   | 8 CONCLUSÃO  | 25 |
| REFERENCIAS   | REFERÊNCIAS  | 26 |

### 1 INTRODUÇÃO

Atualmente o Brasil detém o maior rebanho bovino mundial. São 209.5 milhões de cabeças e, desse total, 22.9 milhões são vacas leiteiras que foram ordenhadas em 2010, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Apesar de ter um rebanho leiteiro grande, a produtividade média é baixa. Nos Estados Unidos, maior produtor, a média de leite diária por vaca é de 25,7 Kg, no Brasil é de 4,88 kg. So que este dado não reflete a realidade de alguns tambos leiteiros, os quais são uma verdadeira empresa rural. A exemplo de Castro, Paraná (PR) maior produtor nacional de leite com produtividade média de 7.115 litros/vaca/ano (IBGE, 2010).

Um dos gargalos da empresa rural leiteira são os índices reprodutivos. E para se ter bons índices reprodutivos sanidade e nutrição devem estar apropriadas para cada categoria animal. Um baixo ou alto escore corporal influencia negativamente nos índices reprodutivos (FERGUSON et al., 1994), tanto as vacas muito gordas como muito magras correm o risco de ter problemas metabólicos e doenças, redução na produção de leite e na taxa de concepção e dificuldade em parir (LAGO et al., 2001).

Para Coneglian (2012), a eficiência reprodutiva é um dos principais fatores que influenciam a produtividade do rebanho leiteiro. Fatores sanitários, problemas de identificação do cio, e fatores nutricionais influenciam para o atraso no retorno à atividade ovariana no pós-parto, maior período de serviço e de intervalo entre partos, redução no período de lactação e menor produção de terneiros durante a vida útil, com isto diminuição da renda da propriedade.

Sabe-se que bons índices de prenhez na inseminação artificial (IA) só são alcançados se houver uma boa detecção de cio. Uma das grandes limitações à expansão da IA, tem sido o custo e falhas associados ao trabalho de observação de estro por longo período de tempo, e assim, fica prejudicado o desempenho reprodutivo do rebanho, o intervalo entre partos e a produção do rebanho (MALUF, 2002), citado por Climeni et al. (2008).

Buscando melhorar os índices reprodutivos sem necessidade de detecção de cio temos a inseminação artificial em tempo fixo (IATF). Através desta técnica consegue-se fertilizar um grande número de vacas em curto espaço de tempo, possibilitando programar a data de parição quando ha maior oferta de alimento.

Como desvantagem da IATF tem seu alto custo com aquisição de medicamentos, mãode-obra especializada. A técnica necessita, para ser empregada, de uma grande quantidade de hormônios, os quais na maior parte, sintéticos, têm um preço bastante elevado. Em vacas de corte amamentando, os programas que utilizam exclusivamente a IATF, independentemente do indutor da ovulação utilizado, apresentam taxas de prenhez que oscilam entre 25 e 67% (BARUSELLI et al., 2002).

Com o objetivo de aumentar esses índices de prenhez, o presente trabalho adicionou ao protocolo de IATF o uso da detecção de estro e inseminação destas vacas em cio entre a retirada do dispositivo de Progesterona Intravaginal e a IATF.

### 2 REVISÃO DA LITERATURA

#### 2.1 Ciclo Estral

Durante o processo de domesticação, tanto bovinos de corte quanto de leite foram selecionados contra a estacionalidade, facilitando a ovulação e a concepção ao longo do ano (HAFEZ et al., 2004). As fêmeas ruminantes domésticas são poliéstricas contínuas apresentando estro a cada 21 dias em média, com uma variação de 17 a 25 dias (SIROIS e FORTUNE, 1988).

O ciclo estral nos ruminantes é caracterizado por ondas foliculares. Uma onda apresenta duração de 7 a 10 dias, sendo descritas de duas a três ondas de crescimento folicular durante o ciclo estral (MACMILLAN et al., 2003). Cada onda folicular apresenta três fases distintas de desenvolvimento: crescimento, estática e regressão (BÓ et al., 2000).

Em um experimento conduzido por Towson et al. (2002) concluíram que vacas holandesas com três ondas foliculares tiveram maior taxa de concepção que animais com duas ondas o que também foi verificado por Ahmad et al. (1997) em vacas de corte.

As ondas foliculares são controladas por interações entre hormônios secretados pelo hipotálamo, hipófise, gônadas e útero (MACMILLAN e BURKE, 1996), as interações hormonais (LH, FSH, inibina, estradiol, progesterona e prostaglandina F2α) são responsáveis pela atresia ou pela ovulação do folículo dominante de uma nova onda de crescimento folicular (MIHM et al., 2002).

O ciclo estral pode ser dividido em duas fases distintas, a fase folicular ou estrogênica, que se estende do pro-estro ao estro, culminando com a ovulação, e a fase luteínica ou progesterônica, que ocorre o metaestro e o diestro terminando na luteólise (MACMILLAN e BURKE, 1996).

O pró-estro, fase que antecede o estro, na qual ocorre um aumento gradativo circulante de estrógeno, sintetizado pelo folículo dominante ou estrogênico, juntamente com aumento da vascularização e espessamento do endométrio e das paredes vaginais, edemaciação inicial da vulva e relaxamento da cervix. Dura em média de dois a três dias, e termina quando a fêmea começa a aceitar a monta.

Estro é a fase em que a fêmea está suscetível a monta, fase de mais fácil caracterização em que ocorre o auge de crescimento folicular com alta síntese de estrógeno pelo folículo,

tem duração média de 12 a 18 horas, terminando quando a fêmea deixa de aceitar a monta. A vaca quando em estro tem comportamento ninfomaníaca, vulva edemaciada com presença de muco cristalino abundante, lordose, inquietude, baixa ingestão de alimentos e diminuição na produção de leite, estes sinais são em decorrência da alta concentração de estrógeno, segundo Moraes et al. (2008). Essa é a fase que antecede a ovulação.

Metaestro é a fase em que ocorre a ovulação com posterior formação do corpo lúteo, o qual secreta quantidades crescentes de progesterona, dura em media de dois a três dias. Nessa fase tem menores concentrações plasmáticas de progesterona, por isso, o folículo da primeira onda cresce mais que o da segunda onda, em animais de três ondas (ADAMS et al., 1992).

Diestro denomina-se a fase de maior duração, sob efeito da progesterona que torna o endométrio mais espesso, e com maior atividade das glândulas, a cervix se fecha, ocorre diminuição da vascularização.

Dura em media de 13 a 15 dias, quando ocorre a regressão fisiológica do corpo lúteo. Altas concentrações de progesterona interferem sobre o crescimento folicular (BERGFELT et al., 1991; e LUCY et al., 1992). Existe um menor crescimento do folículo da segunda onda (ADAMS et al., 1992) em animais de três ondas.

#### 2.2 Foliculogênese

Alguns milhares de folículos estão presentes em cada ovário da vaca, mas apenas um deles ovula em cada ciclo estral (JAINUDEM e HAFEZ, 2004). Nas quais o processo de foliculogenese (ativação, crescimento/maturação folicular) se inicia com a formação dos folículos na vida fetal (MORAES et al., 2008). A maioria desses folículos vai se degenerar, ou seja, atresia, em quanto pouquíssimos completaram sua maturação e posterior ovulação.

Tudo isso é mediado através de hormônios a partir de que a fêmea atinja a maturidade sexual na puberdade, que segundo Jainudem e Hafez (2004) em vacas leiteiras é em torno de 10 a 12 meses. E aproximadamente 40 a 60% do seu peso vivo adulto, isso só é alcançado em rebanhos com manejo nutricional adequado a cada categoria.

Segundo Moraes et al. (2008) as etapas da foliculogenese podem ser divididas de acordo com as características de cada grupo de folículos em: primordiais, comprometidos, ou ativados, sensíveis a gonadotrofinas, dependentes de gonadotrofinas e ovulatórios.

Folículos primordiais compõem a reserva de folículos formado na idade fetal, para utilização durante a vida reprodutiva, os quais ficam em "dormência" até a puberdade.

Folículos comprometidos ou ativados, com a puberdade onde o hipotálamo já esta sensível ao estrógeno possibilitando pulsos de GNRH capazes de aumentar os níveis de FSH e LH determinando a maturação folicular, estes folículos depois de ativados irão ovular ou atresiar.

Folículos dependentes de gonadotrofina têm diâmetro inferior a 4 mm, possuem receptores para FSH e LH, mas tem evidências de que o suporte de gonadotrofinas não seja essencial para o seu desenvolvimento, segundo Moraes et al. (2008).

Folículos dependentes de gonadotrofinas, a dependência de FSH é que distingue estes folículos dos ovulatórios, após o pico de FSH e o declínio dos níveis circulantes desse hormônio, ocorre a atresia dos folículos subordinados (GINTHER et al., 1997) e os que resistem dobram seu tamanho em aproximadamente 4 dias.

Folículos estrogênicos ou ovulatórios, também chamados de dominantes pelo fato de resistir a atresia por não ser mais dependentes de FSH, sintetizarem 55% da inibina e 80% do estrógeno presente na circulação, que são capazes de bloquear a produção de FSH causando a atresia dos folículos subordinados dependentes deste hormônio.

O folículo dominante é caracterizado pelo seu crescimento constante e pela capacidade de produzir estradiol (AUSTIN et al., 1999). Este folículo é dependente de LH e em ambiente favorável sob efeito de uma descarga pulsátil de LH e em baixa concentração de progesterona ovula.

#### 2.3 Fisiologia do Ciclo Estral em Bovinos

A partir da puberdade onde o hipotálamo está maduro, sensível ao estradiol 17- $\beta$  produzido em pequena quantidade pelos folículos selecionados no início de uma nova onda folicular. Este secreta, a partir de pulsos, o hormônio liberador de gonadotrofinas (GNRH) o qual via corrente sanguínea, através do sistema porta – hipotálamo – hipofisiario, atuará na hipófise (adeno-hipofise).

A adeno-hipófise passa a secretar através de um pulso de menor frequência e maior amplitude (de GNRH) o hormônio folículo estimulante (FSH), ao passo que um pulso de GNRH de maior frequência e menor amplitude faz com que seja secretado o hormônio

luteinizante (LH), segundo Wiltbank e Haughian (2003).

A primeira onda folicular começa seu desenvolvimento, ao mesmo tempo em que a ovulação. Já a seleção do folículo dominante fica evidente três dias após a emergência da onda (MARTINEZ et al., 2004).

Os hormônios FSH e LH irão atuar nas gônadas, mais especificamente nos folículos dependentes de gonadotrofinas. O FSH é responsável pelo crescimento dos pequenos folículos e o LH atua no crescimento final do folículo dominante e na ovulação (MIHM et al., 2002).

Os folículos recrutados crescem sob efeito de FSH e com poucos receptores para LH, por isso chamados de FSH dependentes. Por razões desconhecidas, somente um folículo é selecionado, passando a ser chamado de folículo dominante, a secreção de estradiol pelo folículo dominante está associado ao bloqueio da liberação de FSH e sua manutenção em nível basal (GINTHER et al., 2000).

Esse folículo já com mais receptores para LH começa sintetizar estradiol 17-β que através de *Feedback* irá sensibilizar ainda mais o hipotálamo. Com isso, fazendo com que este secrete ainda mais GNRH o qual irá agir na hipófise fazendo com que essa sintetize a mais LH. O folículo dominante além do estradiol 17-β também sintetiza inibina, os quais bloqueiam a síntese de FSH pela hipófise.

Essa cascata de eventos se repete, uma ou duas vezes mais, dependendo do número de ondas foliculares em cada ciclo estral de cada fêmea bovina (média de 2 a 3 ondas).

Com o bloqueio do FSH os folículos restantes, dependentes deste hormônio, irão entrar em atresia. E o folículo dominante sobre ação de uma maior descarga de LH irá produzir uma grande quantidade de estradiol 17-β, o qual irá sensibilizar o hipotálamo, regulando o comportamento reprodutivo das fêmeas, demonstrando os sinais de estro (cio).

Para Moraes et al. (2008) a primeira ovulação no início do ciclo estral não é acompanhada de estro. O que acabada formando um corpo lúteo de vida curta, o qual sintetiza progesterona que potencializa a ação do estradiol, na indução do estro da segunda ou terceira onda folicular.

Fatores nutricionais, ambientais e até infecciosos, que afetam direta e indiretamente o padrão de GNRH/LH em bovinos, apresentam um efeito considerável sobre o folículo dominante, e consequentemente, sobre sua ovulação e fertilidade. A deficiente condição corporal resulta em folículos dominantes com baixa atividade esteroidogênica (PRADO et al., 1990) e menor diâmetro (MURPHY et al., 1990).

Este estradiol 17-β é responsável por uma grande descarga de GNRH a qual induz um alto pico de LH resultando na ruptura do folículo (ovulação). Esse pico de LH também é responsável pela luteinização das células remanescentes do folículo, formando o corpo lúteo o qual é responsável pela síntese de progesterona.

Os bovinos são os únicos dentre os animais que ovulam 10 a 12 horas após o término do cio, ou seja, 30 horas após o início do cio (JAINUDEEN e HAFEZ, 2008). A ovulação de um folículo dominante induz o posterior surgimento de uma nova onda folicular aproximadamente 1,5 dias depois seguido pelo crescimento e desenvolvimento de um novo folículo dominante e de um corpo lúteo acessório durante os sete dias seguintes.

Segundo Moraes et al. (2008), a qualidade da função lútea depende do estado do folículo que a originou. Refletindo nos sucessivos estádios de crescimento, manutenção, e regressão do corpo luteo que no bovino só funciona em função plena a partir do quinto dia de sua formação. Sua funcionalidade é mantida pelo LH proveniente da hipófise anterior.

Caso ocorra a fecundação na ampola do oviduto, em cinco dias o embrião estará no útero, próximo da implantação do embrião nos dias 15 a 25 após a ovulação e fecundação ele produz uma proteína chamada interferon tau (IFN-T) a qual bloqueia a luteolise.

Mas caso não tenha ocorrido fecundação o corpo lúteo sintetiza o hormônio ocitocina a qual ativa o endométrio do útero a produzir prostaglandina F2α (PGF2α), fator luteolitico extremamente degradável no pulmão.

Por isso a PGF2α entra na artéria ovariana da veia útero-ovariana por um mecanismo de transferência contra-corrente e parece agir localmente no corpo lúteo para dar início a luteólise (MCCRACKEN et al., 1999).

Esta regressão ou involução do corpo luteo, que encerra o ciclo estral de vacas (MCCRACKEN et al., 1999; NISWENDER et al., 2000). O CL é refratário a uma dose luteolítica de PGF2α durante os primeiros 5 dias do ciclo estral (LAUDERDALE et al., 2009). Esta resistência durante a fase inicial de desenvolvimento do CL pode ser devido à falta de expressão de mediadores responsáveis pela luteólise (MCCRACKEN et al., 1999),

## 3 RELAÇÃO PRODUÇÃO DE LEITE E MANEJO X FERTILIDADE

A produção de leite e o desempenho reprodutivo são os principais fatores determinantes da lucratividade em vacas leiteiras. Acredita-se que a maior produção de leite seja a causa do aparente declínio do desempenho reprodutivo (LUCY, 2001).

Esse baixo desempenho reprodutivo tem diversas causas, como falhas de manejo, estresse térmico, deficiências nutricionais, doenças infecciosas, incompetência útero/placenta, qualidade insatisfatória do gameta e do embrião durante a pré-implantação, função ovariana anormal, anovulação, anestro comportamental (GROOMS, 2010; LUCY, 2011).

Um manejo incorreto, principalmente em rebanhos grandes, compromete o desempenho reprodutivo. O aumento dos rebanhos leiteiros trás consigo mais trabalho para com os animais, seja na limpeza do setor de ordenha, bem como no preparo da alimentação (concentrado, pastagens), cuidados com os terneiros, entre outros.

Esse aumento na carga de trabalho faz com que se passe menos tempo na detecção de estro. Geralmente as vacas secas e novilhas ficam em potreiros separados de vacas em lactação, tendo que serem observadas, também separadamente.

Em todo o mundo existem relatos que indicam baixa taxa de serviço em bovinos, principalmente devido a comprometimento na eficiência da detecção de estro (ROSA, 1999). Pinheiro et al., (1998), estudando a distribuição da ocorrência do cio durante o dia com vacas Nelore, verificaram que 53,8% dos cios começam durante a noite e que 30,7% começam e terminam durante o período da noite.

Para Hansen et al. (2000) e Chebel et al. (2004) perdas embrionárias precoces também são relacionadas a mastite, pois células imunes inflamatórias afetam o ovário e o útero. O que também é causado por metrites, e retenção de placenta.

Rutigliano et al. (2008) dizem que estas duas complicações duplicam o risco das vacas permanecer com inflamação uterina no momento da inseminação, e que também tem uma menor ingestão de matéria seca o que é um problema pois as vacas para ciclar normalmente devem estar ganhando peso.

Em regiões produtoras onde a temperatura é muito elevada tem problemas devido ao estresse calórico. Exercendo efeitos deletérios sobre os embriões, reduzem a produção de estrógeno pelo folículo pré-ovulatorio, afetando a qualidade do ovócito e do espermatozóide Bilby (2009).

O excesso de calor afeta também a manifestação de cio. Santos et al. (2009),

observaram que vacas paridas no verão, onde os problemas de parto e o estresse são maiores, tiveram maior numero de cistos foliculares nos meses de abril a junho.

O melhoramento genético para alta produção de leite, faz com que no pós parto a vaca tenha uma grande perda de peso, ocorre uma demanda muito alta por glicose, ácidos graxos e proteínas, as vacas são incapazes de compensar esta demanda com simples ingestão de matéria saca e ocorre balanço energético negativo (BEN), segundo Leroy et al. (2009).

Esta perda de peso é proveniente da degradação do tecido adiposo o qual leva a uma anovulação que favorece um meio hormonal inadequado ao desenvolvimento folicular préovulatório, ao pico de LH e por consequência não ovulação.

Para Butler et al. (2000) o balanço energético durante as três primeiras semanas está altamente correlacionado ao intervalo entre o parto e a primeira ovulação.

De acordo com Lopes et al. (2004) vacas de alta produção apresentam ciclo estral mais curto, menor número de inseminações e menor tempo de aceitação de monta que vacas de baixa produção, o que também foi relatado por Wiltbank et al. (2006).

A grande capacidade de ingestão de matéria seca faz com que as vacas tenham um metabolismo hepático, aumentando também a passagem de sangue pelo fígado degradando a progesterona e o estradiol presente na circulação, aumentando também o fluxo do alimento no intestino, não dando tempo destes hormônios serem reabsorvidos e são excretados nas fezes afetando a secreção de LH, o qual não é capaz de estimular o ovário (JOLLY et al., 1995).

#### **4 TRATAMENTO HORMONAL**

No protocolo de IATF é preciso utilizar um sistema que controle o crescimento dos folículos, a regressão do corpo lúteo e a ovulação.

Existem vários tratamentos hormonais, porém neste trabalho foi usado a consorciação de progesterona (P4), estrógeno (E2), gonadotrofina coriônica equina (ECG), prostaglandina (PGF2α) e hormônio liberador de gonadotrofinas (GNRH).

Os progestagenos associados aos estrógenos causam a diminuição dos níveis circulantes de FSH e LH causando a atresia dos folículos gonadotróficos – dependentes. Ocorre a metabolização do estrógeno e com isso o surgimento de uma nova onda com um pico de FSH.

Segundo Stock e Fortune (1993) o tratamento com progesterona exógena bloqueia o pico de LH fazendo com que não ocorra a ovulação do folículo dominante em animais que estejam na fase estrogênica do ciclo estral.

Para Sá Filho et al. (2004), o Benzoato de Estradiol apresentam meia vida curta, induzindo eficazmente a emergência de uma nova onda folicular no grupo de animais tratados. Após a retirada do dispositivo intravaginal de progesterona, entre o sétimo e nono dia permitira que as vacas manifestem estro juntamente com o restante do grupo tratado. (MORAES et al., 2008).

Uma aplicação de gonadotrofina coriônica equina (ECG) atua estimulando de forma direta o desenvolvimento folicular obtendo um folículo com no mínimo 12mm,os folículos ovarianos adquirem maior capacidade ovulatória a partir dos 12mm de diâmetro (SARTORI et al., 2001).

O eCG é um fármaco de meia vida longa (até três dias), produzido nos cálices endometriais da égua prenha e se liga a receptores de LH do corpo lúteo. O eCG cria condições de crescimento folicular e de ovulação. Seu uso tem se mostrado compensador em rebanhos de baixa taxa de ciclicidade, animais recém paridos (período pós-parto menor que 60 dias) e animais com condição corporal comprometida (BARUSELLI et al., 2004).

Silva et al. (2004) verificaram um aumento significativo na taxa de prenhez de vacas Nelore tratadas com eCG e submetidas à IATF de 50,9% (56/110) contra 37,8% (37/98) de vacas não tratadas. (BARUSELLI et al., 2004; BÓ et al., 2005), também obtiveram um aumento na tacha de prenhez em vacas de corte, amamentando, tratadas durante o anestro pós-parto.

O uso de prostaglandina é indicado para fazer a regressão do corpo lúteo, sem alteração do crescimento folicular (VASCONCELOS, 2000). Só que esse corpo lúteo deve estar funcional, com isso as vacas que não tiveram a regressão do corpo luteo por ação do estrógeno terão por ação da PGF2α, o que resulta na sincronização do estro e da ovulação (MORAES et al., 2008).

Uma aplicação de hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), fará com que se tenha um pico de LH o qual promovera a ovulação do folículo dominante, e com isso um maior controle da ovulação (LAMMOGLIA et al., 1998).

#### **5 JUSTIFICATIVA**

Devido ao grande número de vacas não-prenhaz, devido a falhas na detecção de estro, causadas por recursos humanos incapacitados e descomprometidos, em aumentar o número de animais em lactação. Podendo aumentar assim a renda da empresa rural e, por consequencia, a renda do contribuinte.

Deixando vacas com longo período entre parto concepção, animais em bom estado sanitário e nutricional. As quais não eram inseminadas ou por ocorrerem cios noturnos ou não observados adequadamente. Fez com que utilizássemos de biotécnicas de reprodução como a IATF, não necessitando observar cio ou então por pouco período.

#### 6 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi realizado na granja Durasnal, localizada no interior do município de São Borja, a 33 km da sede do município, fronteira oeste do estado do Rio Grande do Sul. A propriedade tem 70 ha, sendo 8 ha com sistema de irrigação do tipo fixo, onde cada ha corresponde a um piquete com pastagem. O restante da área distribuído entre lavouras para pastagens e campo nativo.

Foram utilizadas um total de 35 vacas holandesas, multíparas, com pelo menos 50 dias de pós-parto, divididas em grupos. Todas apresentavam escore corporal médio de 3, em uma escala de 1 a 5 com variações de 0,5 pontos (FERGUSON et al., 1994).

Durante o trabalho realizado as vacas estavam em pastagem de milheto (*Pennisetum americanum*), ADR500 Super Massa® (*Pennisetum glaucum*) Tifton (*Cynodon spp*). Também receberam concentrado com 18% de proteína bruta (PB) e 75 de nutriente dissolúvel total (NDT). As vacas eram ordenhadas duas vezes ao dia.

No início do tratamento (dia zero), todas as vacas receberam um dispositivo intravaginal de progesterona (DIP) e uma injeção intramuscular (IM) de 2ml benzoato de estradiol (BE). No dia 8, foi removido o DIP, foram aplicadas 400UI de gonadotrofina coriônica equina (eCG) por via IM e 2ml de prostaglandina (PGF2α) IM.

Após a retirada dos DIP (dia 8), as vacas do grupo dois (n: 18) foram observadas para detecção de estro duas vezes por dia (manhã/tarde) por dois dias, sendo submetidas à inseminação artificial 12h após a detecção. No dia 10 (48h depois da retirada do DIP), todas as vacas (inclusive grupo um) que não foram diagnosticadas em estro nesse período receberam uma injeção IM de 1ml de GnRH, e 8h após foram submetidas à IATF (inclusive as vacas que já aviam sido inseminadas).

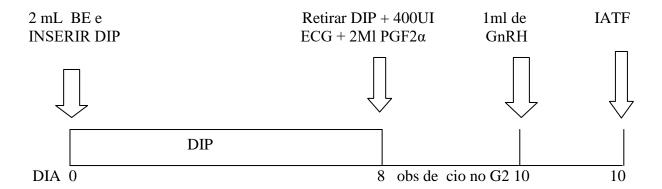
O diagnóstico de gestação foi realizado 45 dias após a IATF por palpação retal. As taxas de concepção e prenhez foram comparadas pelo teste qui-quadrado.

O custo do protocolo do G1 ficou em R\$ 58,38/vaca somando-se os custos com medicamentos e o sêmen (R\$ 40,00), não está contabilizado os custos operacionais.

No G2 os custos ficaram em torno de R\$ 99,25/ vaca, já que em torno de 70% das vacas entraram em estro. Sendo utilizado duas doses de sêmen nessas vacas.

O custo por terneiro nascido no grupo 1 ficou em R\$ 141,38, já no grupo 2 ficou em R\$ 162,41.

QUADRO 1: Desenho esquemático do protocolo de IATF



### 7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A taxa de prenhez obtida no grupo 2, no qual se associou a detecção de estro entre os dias 8 e 10 do protocolo de IATF, foi maior do que no grupo 1, em que se utilizou exclusivamente a IATF (61% x 41,18% respectivamente: P< 0,001). Esses resultados são condizentes com os resultados encontrados por Siqueira et al. (2008), em um trabalho realizado com vacas de corte em amamentação, no estado do Rio Grande do Sul (RS) onde os quais obtiveram 20% a mais de prenhez.

O custo de R\$ 21,03 a mais do G2 é aceitável, já que se consegue reduzir o intervalo parto concepção. Este custo paga-se, pois aumenta os dias produtivos destes animais, e a dose de sêmen extra usada neste grupo, esta a baixo da media nacional da taxa de inseminação no gado leiteiro que é de 3 doses/prenhez (FERRAZ, 1996).

TABELA 1: Resultados perante cada protocolo de IATF

|         | Total | Prenhes | Não prenhes |
|---------|-------|---------|-------------|
| Grupo 1 | 17    | 7       | 10          |
| Grupo2  | 18    | 11      | 6           |
| Total   | 35    | 18      | 16          |

Não houve diferença estatística entre os tratamentos (p=0,05)

#### 8 CONCLUSÃO

Este resultado encontrado, apesar de o número de animais testados ser pequeno, mostrou que um incremento na porcentagem de prenhez em vacas em lactação é extremamente benéfico, aumentando com isso a produção leiteira da propriedade, apesar de aumentar o custo do programa devido a essas duas doses de sêmen utilizadas nas vacas que demonstram estro. Estes dados encontrados poderiam ter sido melhores (maior número de prenhez), já que apesar de os animais estarem sendo alimentadas adequadamente, no verão do

ano (2012) a estiagem e as altas temperaturas estiveram presentes, o que afeta diretamente os índices reprodutivos. Então para uma melhor veracidade, este trabalho deveria ser realizado em um grupo maior de animais e em épocas do ano mais propicias para a reprodução.

#### REFERÊNCIAS

- ADAMS, G.P;MATTERI,R.L.;GINTHER,O.J. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. **Journal Reproduction Fertility,** v. 95, p. 627-640, 1992.
- AHMAD, N;TOWNSEND,E.C;DAILEY,R.A.;INSKEEP,E.K. Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. **Animal Reproducion Science**, v. 49, p.13-28, 1997.
- AUSTIN, E.J; MIHM, M.; RYAN, M.P.; WILLIAMS, D.H.; ROCHE, J. Effecta of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. **Journal Animal Science**, v. 77, p. 2219-2226, 1999.
- BARUSELLI, P.S. et al. Efeito de diferentes protocolos de inseminação artificial em tempo fixo na eficiência reprodutiva de vacas de corte lactantes. **Revista Brasileira Reprodução Animal,** v. 26, p. 218-221, 2002.
- BARUSELLI, P.S.; Reis, E.L; Marques, M.O. et al. The use of hormonal treatments to Improve reproductive performance of anestrus beef catlle in tropical climates **Animal Reproduction Science**, v 82-83, p. 497-486, 2004a.
- BERGFELT, D.R.; KASTELIC, J.P.; GINTHER, O.J. Continued periodic emergence of follicular waves in non-bred progesterone-treated heifers. **Animal Reproduction Science**, v. 24, p.193-204, 1991.
- BILBY, T.R. XIII Curso de Novos Enfoques na Reprodução e Produção de Bovinos, realizado em Uberlândia, março de 2009.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; MAPLETOFT, R.J. Dinâmica Folicular Ovárica em El Bovino In Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes, 2000, **São Paulo. Anais.** São Paulo
- BÓ, G.A.; CUTAIA, L.; CHESTA, P. et al. Implementacion de programas de inseminacion artificial em rodeos de cria de Argentina. **In VI Simpósio Internacional de Reproducion Animal,2005, Córdoba. Anais...** Córdoba: 2005. p. 97-128.
- BUTLER, W. R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy catle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 449-45, 2000.
- CHEBEL, R.C.; SANTOS, J.E.,;REYNOLDS, J.P.; CERRI, R.L.; JUCHEM, S.O.; OVERTON, M. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. **Animal Reproduciton Science** 84: 239-255, 2004.
- CLIMENI, B. S. O.; PICCININ, A. A implantação de IATF (Inseminação em Tempo Fixo ) juntamente da IA (Inseminação tradicional) como mecanismos alternativos para o manejo

reprodutivo de bovinos. **Rev. Cientifica Eletrônica de Medicina Veterinária** – ISSN: 1679-7353. Ano VI – Nu. 10 – Jan. de 2008

CONEGLIAN, S. Suplementação na dose e no tempo certo. **AGRural, A Revista do Criador, Ed. Porto Alegre: Centaurus**, Jul,2012, p.72-75.

CUTAIA,L.E., Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Rodeos Lecheros: Diferentes Estrategias de Implementación. **Instituto de Reproducción Animal Córdoba** (IRAC), Universidad Católica de Córdoba, Syntex SA http://www.syntexar.com/descargas/Manejo%20Reproductivo%20en%20Rodeos%20Lechero s.pdf Acessado em 30/09/12

FERGUSON, J.D.; GALLIGAN, D.T.; THOMSEN, N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.9, p.2695-2703, 1994.

FERRAZ, J. B. S.; Impacto econômico na pecuária de leite ecorte do Brasil, com o aumento da utilização da inseminação artificial. **Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte,** v. 20, p.77-132, 1996.

GINTHER, O.J.; KOT, K.; KULICK, L.J.; WILTBANK, M.C. Emergence and deviation of follicles during the development of follicular waves in catle. **Theriogenology**, v.48, p. 75-87, 1997.

GINTHER, O.J.; BERGEFELT, D.R.; KULICK, L.J.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle; role of estradiol. **Biol Reprod** 2000; 63:383-389.

GROOMS, D. L. Programas para controle de doenças infecciosas e melhoria do desempenho reprodutivo. In: XIV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2010. Uberlândia. Anais

HAFEZ, E.S.E.; HAFEZ. Reprodução Animal. 7. ed. São Paulo: Manole, 2004.

HANSEN. L.B.;. Consequences of selection for milk yield from a geneticist's viewpoint. **Journal of Dairy Scienc** 83:1145-1150. 2000.

JAINUDEM, M. R.; HAFEZ, E.S.E. Falha Reprodutiva em Fêmeas p.261-278. **Reprodução Animal l.** 7. ed. São Paulo: Manole, 2004.

www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia\_visualiza.php?id\_noticia=2010&id\_pagin a=1

JOLLY, P.D.; MCDOUGALL, S.; FITZPATRICK L. A.; MACMILLAN K.L.; ENTWISTLE K.; Physiological effects of undernutrition on post partun anestrous in cows. **J Reprod Fértil**. Suppl 49; 477-492,1995

- LAGO, E.P.; PIRES, A.V.; SUSIN, I.; FARIA, V.P.; LAGO, L.A. Efeito da Condição Corporal ao Parto sobre Alguns Parâmetros do Metabolismo Energético, Produção de Leite e Incidência de Doenças no Pós-Parto de Vacas Leiteiras. **Rev. bras. Zootc.,**30(5):15441595, 2001 http://www.scielo.br/pdf/rbz/v30n5/6694.pdf acessado em 13/03/12.
- LAMMOGLIA, M.A. et al. Induced and synchronized estrus in cattle: dose titration of estradiol benzoate in peripubertal heifers and postpartum cows after treatment with an intravaginal progesterone-releasing insert and prostaglandin F2a. **Journal of Animal Science**, v.76, p.1662-1670, 1998.
- LAUDERDALE J. W. Contributions in the Journal of Animal Science to the development of protocols for breeding management of cattle through synchronization of estrus and ovulation. **Journal Animal Science**. 87:801-812. et al. 2009.
- LEROY, J. L. M. R.; VANHOLDER, T.; VAN KNEGSEL, A. T. M.; GARCIA-ISPIERTO, I.; BOLS, P. E. J. Priorização de nutrientes em vacas leiteiras no pós-parto imediato: discrepância entre metabolismo e Fertilidade? In: XIII Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2009, Uberlândia. Anais.
- LOPEZ, H., L.D. Satter, and M.C. Wiltbank. Relationship between level of milk production and estrous behavior of lactating dairy cows. **Animal Reproduction Science**. 81:209-223, 2004.
- LUCY MC, SAVIO JD, BADINGA L, DE LA SOTA RL, THATCHER WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. *Journal Animal Science*, v.70, p.3615-3626, 1992.
- LUCY, M. C. Reproductive loss in high-producing dairy catlle: Where will it end? **Journal of Dairy Science, Champaign,** v.84, p.1277-1293, 2001.
- LUCY, M. C. Desafios na reprodução de vacas leiteiras de alta produção. In: XV Curso Novos Enfoques na Produção e Reprodução de Bovinos, 2011, Uberlândia. Anais.
- MACMILLAN K.L.; SEGWAGWE, B.V.E.;PINO, C.S Associations between the manipulation of follicular development and fertility in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.78,p.327-344, 2003.
- MACMILLAN, K.L.; BURKE, C.R Effets of oestrous cycli control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science**, v.42, p.307-320, 1996.
- MALUF, D.Z., Avaliação da reutilização de implantes contendo progestágenos para controle farmacológico do ciclo estral e da ovulação em vacas de corte. **Piracicaba, São Paulo Brasil, 2002. 60p. Dissertação de Mestrado.**
- MAPLETOFT, R.J.; BÓ, G.A.; ADAMS, G.P. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: Past, present and future. In III Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada,2008, Londrina. Anais...Londrina:2008. p.15-25.

MARTINEZ, M.F.; BÓ, G.A.; MAPLETOFT, R.J. Synchronization of follicular wave emergence and ovulation for reproductive biotechnologies. In I Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada,2004,Londrina. Anais... Londrina, 2004. p. 20-56.

MCCRACKEN, J. A., E. E. Custer, and J. C. Lamsa. Luteolysis: a neuroendocrine-mediated event. **Physiol. Rev.** 79(2):263-323, 1999.

MIHM, M.; AUSTIN, E.J The final stages of dominant follicle selection in cattle. **Domestic Animal Endocrinology**, v.23, p.155-156, 2002.

MORAES, J.C.F.; SOUZA, C.J.H.; GONÇALVES, P.B.D.; FREITAS, V.J.F.; JÚNIOR, E.S.L.; Controle do Estro e da Ovulação em Ruminates. p. 33-56 Biotecnicas Aplicadas a Reprodução Animal. 2 ed., São Paulo: Roca 2008.

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

NEVES, P.J.; OLIVEIRA, J.F.C.; FREITAS, V.J.F.; SIMPLÍCIO, A.A.; TEIXEIRA, D.I.A.; ALMEIDA, J.L., Diagnóstico de Prenhez em Ruminantes. p. 17-32. **Biotecnicas Aplicadas a Reprodução Animal. 2 ed.**, São Paulo: Roca 2008.

NISWENDERG.D., JUENGEL.J.L.;, SILVA, P.J. ROLLYSON. M.K.; and MCINTUSH. E.W.; Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. **Physiol. Rev.**80:1-29-.2000.

PINHEIRO, O. L.; BARROS, C.M., FIGUEIREDO, R.A. et al. Estrous behavior and estrusto ovulation interval in Nelore catlle (Bos Indicus) with natural estrus, or estrus induced with prostaglandin F2α or norgestomet and estradiol valerate **Theriogenology**, v.49, p.667-81, 1998.

PRADO, R.; RHIND, S. M.; WRIGHT, A. et al. Ovarian follicle populations, steroidogenicity and micromorphology at 5 and 9 weeks post partum in beef cows in two levels of body condition. **Animal Production**, v. 51, p. 103-108, 1990.

ROSA, A.N. Variabilidade fenotípica e genética do peso adulto e da produtividade acumulada de matrizes em rebanhos de seleção da raça Nelore no Brasil. **Ribeirão Preto: USP,** 1999. 120p. (Dissertação de Tese, Doutorado em Ciências)

RUTIGLIANO, H.M., F.S. LIMA, R.L.A. CERRI, L.F. GRECO, J.M. VILLELA, V. MAGALHÃES, F.T. SILVESTRE, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. Effects of method of presynchronization and source of selenium on uterine health and reproduction in dairy cows. **J. Dairy Sci.** 91:3323-3336, 2008.

SÁ FILHO, M.F.; AMARAL, J.P.B.; MANTOVANI, A.P.;REIS, E.L.; NICHI, M.; BARUSELLI, P.S. Effect of synthetic progesterone (Afisterone) administration at the moment of CIDR insertion on follicular wave emergence in beef heifers. (Aceito para

#### bublicação no International Congress of Animal Reproduction-2004).

SANTOS, R. M.; DÉMETRIO, D. G. B.; VASCONCELOS, J. L. M. Cisto ovariano em vacas de leite: incidência, resposta à aplicação de GnRH e desempenho reprodutivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.527-532, 2009.

SARTORI R, FRICKE PM, FERREIRA JC, GINTHER OJ, WILTBANK MC. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. **Biol. Reprod**. 65:1403-1409, 2001.

SILVA, R.C.P.; Rodrigues, C.A.; Marques, M.O. et al. Efeito do eCG e do GnRH na taxa de prenhez de vacas Nelores lactantes inseminadas em tempo fixo. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 32 (suplemento), p. 221, 2004.

SIQUEIRA, L.C.; OLIVEIRA, J.F.C.; LOGUÉRCIO, S.R.; LOF, 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.**Rev. Ciência Rural, Santa Maria, v. 38**, n.2, p.411-415, mar-abr, 2008 http://www.scielo.br/scielo.php acessado em 13/03/12.

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

STOCK, A.E.; FORTUNE, J.E Ovarian follicular dominance in cattle; Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. **Endocrinology**, v.132, p. 108, 1993.

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

WILTBANK, M.C.; HAUGHIAN, J.M.GNRH: Bases fisiológicas para entender sua utilização em protocolos de sincronização.VII CURSO NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, p 121-131, 2003.

WILTBANK M, LOPEZ H, SARTORI R, SANGSRITAVONG S, GUMEN A. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology** 65:17-29, 2006.

VASCOCELOS, J.L.M. Controle do estro e da ovulação visando à inseminação artificial em tempo fixo em bovinos de leite **In Controle Farmacológico do Ciclo Estral em Ruminantes, 2000, São Paulo. Anais...** São Paulo: 2000. p.115-157.