

Remoção temporária de bezerros em dois momentos do protocolo de sincronização da ovulação GnRH-PGF_{2α}-BE em vacas Nelore pós-parto

[Temporary weaning of calves at two different times of the GnRH-PGF_{2α}-EB synchronization protocol for ovulation in post-partum Nelore cows]

J.L.M. Vasconcelos¹, E.R. Vilela², O.G. Sá Filho¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica – UNESP
Departamento de Produção Animal
Caixa Postal 560

18618-000 – Botucatu, SP

²Lageado Consultoria Agropecuária Ltda – Mineiros, GO

RESUMO

Os efeitos da remoção temporária de bezerros (RB) sobre características foliculares e taxas de ovulação e de prenhez de vacas Nelore foram avaliados em dois experimentos quando da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), utilizando-se um protocolo à base de GnRH-PGF_{2α}-BE. No experimento 1, 139 vacas Nelore, lactantes, cíclicas ou acíclicas, receberam um protocolo hormonal envolvendo a aplicação de 100µg de análogo GnRH no dia zero (D0-GnRH), 25mg de PGF_{2α} no dia 7 (D7-PGF_{2α}) e 1,0mg de benzoato de estradiol no dia 8 (D8-BE). Os animais foram aleatoriamente distribuídos para serem submetidas ou não à RB (48 horas) antes da aplicação de GnRH (RB1) ou após a aplicação de PGF_{2α} (RB2). Avaliaram-se o diâmetro folicular (DF) nos dias 0 (D0) e 9 (D9) do protocolo e as taxas de ovulação (TO), advindas dos tratamentos. As vacas acíclicas que receberam RB1 apresentaram maiores DF no D0 (P<0,05) e taxa de ovulação (P<0,05) quando da aplicação de GnRH, em relação às que não receberam RB1. Nas vacas cíclicas, não houve efeito da RB1 sobre as variáveis analisadas. As vacas que receberam RB2 apresentaram maiores DF no D9 (P<0,05) e taxa de ovulação (P<0,01) quando da aplicação de BE, em relação às que não receberam a RB2. No experimento 2, 376 vacas da raça Nelore, lactantes, foram submetidas ao mesmo protocolo hormonal e aos mesmos tratamentos do experimento 1, mas foram inseminadas 24 a 30 horas após a aplicação de BE no D8, visando avaliar a taxa de prenhez após a IATF. A taxa de prenhez foi maior nos animais que receberam as duas RB em relação às que não receberam RB (29,8% vs 10,6%; P<0,05). A remoção de bezerros associada ao protocolo hormonal aplicado pode ter aumentado as taxas de prenhez devido às maiores taxas de ovulação, em resposta ao GnRH ou ao benzoato de estradiol.

Palavras-chave: bezerro, raça Nelore, remoção temporária, IATF, pós-parto

ABSTRACT

The effects of temporary weaning (TW) on follicular characteristics and ovulation and pregnancy rates were evaluated in Nelore cows submitted to a fixed-time artificial insemination (TAI) protocol using GnRH-PGF_{2α}-EB. In Experiment 1, 139 cycling or non-cycling suckling Nelore cows received a hormonal protocol based on administration of 100µg of GnRH analog on day zero (D0-GnRH), 25mg of PGF_{2α} on day seven (D7-PGF_{2α}) and 1.0mg of estradiol benzoate on day eight (D8-BE). Cows were randomly assigned to receive or not TW (48 hours) before GnRH (TW1) or after PGF_{2α} (TW2). Follicular diameter (FD) on days zero (D0) and nine (D9) of the protocol and ovulation rates were evaluated. Non-cycling cows that received TW1 had larger FD on D0 (P<0.05) and higher ovulation rate after GnRH treatment (P<0.05) than cows without TW1. No effects of TW1 on analyzed variables of cycling cows

Recebido em 25 de junho de 2008

Aceito em 12 de janeiro de 2009

E-mail: vasconcelos@fca.unesp.br

were observed. TW2 cows had larger FD on D9 ($P<0.05$) and higher ovulation rate after EB treatment ($P<0.01$) than cows without TW2. In Experiment 2, 376 suckling Nelore cows were submitted to the same protocols and treatments described in Experiment 1, and artificial insemination was performed from 24 to 30 hours after EB on D8, aiming to evaluate the pregnancy rate after fixed-time artificial insemination. The pregnancy rate was higher in cows submitted to both TW (1 and 2) than in cows without TW (29.8% vs 10.6%; $P<0.05$). Temporary weaning associated to the applied protocol may have improved pregnancy rates due to greater ovulation rates after GnRH or EB treatments.

Keywords: calf, temporary weaning, TAI, Nelore cows, post-partum

INTRODUÇÃO

O prolongado anestro pós-parto e a falha na detecção do estro são os principais fatores que prolongam o intervalo parto-concepção nos sistemas de cria de bovinos de corte (Yavas e Walton, 2000). Portanto, estratégias para antecipar o retorno à ciclicidade pós-parto podem causar impacto benéfico aos sistemas de produção (Meneghetti e Vasconcelos, 2008).

O vínculo entre vaca e bezerro é um importante fator que contribui no atraso ao retorno à ciclicidade após o parto. O estímulo causado pelo bezerro na vaca durante a sucção aumenta a sensibilidade do centro gerador de pulsos de GnRH no hipotálamo ao efeito de retroalimentação negativa do 17β -estradiol ovariano, pela liberação de peptídeos de opioides endógenos pelo hipotálamo (Stevenson et al., 1994). Esses eventos resultam na supressão da liberação de pulsos de LH, na falha no desenvolvimento do folículo dominante e da ovulação e, conseqüentemente, na manutenção do anestro pós-parto (Murphy et al., 1990). A remoção temporária de bezerros por 48 horas aumenta a frequência de pulsos de LH (Williams et al., 1983; Edwards, 1985) e a porcentagem de animais que apresentem comportamento de estro (Vasconcelos et al., 2004).

Trabalhos prévios têm demonstrado que tratamentos com agonistas de GnRH causam ovulação do folículo dominante e luteinização (Thatcher et al., 1993), com emergência sincronizada de uma nova onda folicular (Pursley et al., 1995). A administração de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), seis a sete dias após o tratamento com GnRH, promove a regressão do corpo lúteo, concentrando a manifestação de estro em um curto período de tempo (Twagiramungu et al., 1992). Se uma injeção de benzoato de estradiol (BE) for administrada 24 horas após o tratamento

com $PGF_{2\alpha}$, a ovulação ocorre sincronizadamente 40 horas após (Hanlon et al., 1997), permitindo, portanto, inseminação em tempo fixo (IATF), sem necessidade de observação de estro, aproximadamente 30 horas após o tratamento com BE (Barros et al., 2000). Esse protocolo (GnRH- $PGF_{2\alpha}$ -BE), em vacas Nelore, proporcionou taxa de prenhez satisfatória em animais ciclando, porém não foi eficaz em animais em anestro (Fernandes et al., 2001).

A ovulação ao primeiro estímulo ovulatório em protocolos similares ao GnRH- $PGF_{2\alpha}$ -BE é de fundamental importância para o sucesso do protocolo (Vasconcelos et al., 1999). Em vacas cíclicas, ausência de ovulação após o tratamento com GnRH pode comprometer a ovulação após o tratamento com BE, uma vez que a onda folicular não será sincronizada e, portanto, pode não haver um folículo dominante no momento do pico de LH induzido pelo BE. Em vacas em anestro, a ausência de ovulação, após o tratamento com GnRH, pode comprometer a taxa de concepção, pois nesse caso os animais que ovularem após o tratamento com BE não terão sido expostos previamente à progesterona, apresentando luteólise prematura (Sá Filho, 2007).

No experimento 1, a hipótese foi que a remoção de bezerros, devido ao seu efeito na pulsatilidade de LH, manteria a presença do folículo dominante e, conseqüentemente, aumentaria a resposta ovulatória aos tratamentos com GnRH e BE durante o protocolo de sincronização da ovulação GnRH- $PGF_{2\alpha}$ -BE. No experimento 2, a hipótese foi que a inclusão de remoção de bezerros ao protocolo de sincronização da ovulação aumenta a taxa de prenhez após inseminação artificial em tempo fixo. O objetivo dos experimentos foi avaliar os efeitos da remoção de bezerros em protocolo de sincronização da ovulação.

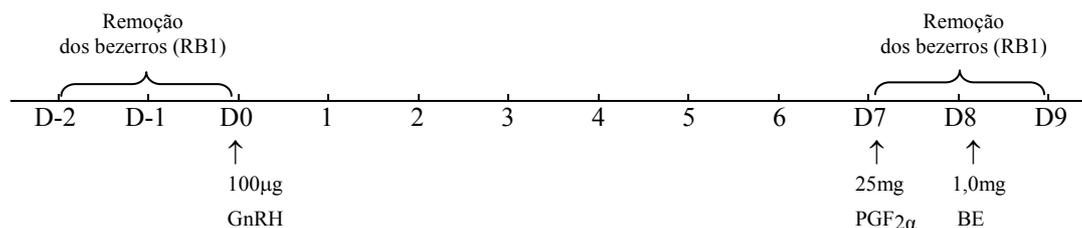
MATERIAL E MÉTODOS

No experimento 1, avaliaram-se o diâmetro do folículo dominante e as taxas de ovulação após os estímulos ovulatórios do protocolo de sincronização da ovulação com GnRH-PGF_{2α}-BE.

Foram utilizadas 139 vacas Nelore lactantes (60 a 150 dias pós-parto) com escore de condição corporal entre 2,75 e 3,75 (escala de 1 a 5; Maciel, 2006) pertencentes a uma fazenda comercial no município de Santa Rita do Araguaia, GO. As vacas foram mantidas em pasto de *Brachiaria decumbens* com água e sal mineral *ad libitum*. Antes do início dos tratamentos, as vacas foram avaliadas quanto à ciclicidade, por meio de dois exames ultrassonográficos¹ e duas análises das concentrações séricas de progesterona (radioimunoensaio com anticorpo em fase líquida) com intervalo de oito dias, sendo consideradas em anestro as que não apresentaram

tecido lúteo visível e que apresentaram concentrações séricas de progesterona <1,0ng/mL.

As vacas foram aleatoriamente distribuídas para receber um dos seguintes tratamentos: tratamento 1 (controle; n=37) – no dia 0, injeção IM de 100µg de análogo de GnRH (1,0mL de Cystorelin)²; no dia 7, injeção IM de 25mg de análogo de PGF_{2α} (5,0mL de Lutalyse)³; no dia 8, injeção IM de 1,0mg de benzoato de estradiol (1,0mL de Estrogin)⁴; tratamento 2 (n=35) – semelhante ao tratamento 1, porém com remoção temporária de bezerros por 48 horas entre os dias -2 e 0 (RB1); tratamento 3 (n=35) – semelhante ao tratamento 1, porém com remoção temporária de bezerros por 48 horas entre os dias 7 e 9 (RB2); tratamento 4 (n=32) – semelhante ao tratamento 1, porém com remoção temporária de bezerros por 48 horas entre os dias -2 e 0 (RB1) e entre os dias 7 e 9 (RB2), de acordo com o seguinte esquema.



Durante as 48 horas de cada remoção temporária, os bezerros foram separados das vacas em currais, de forma a ficarem ao alcance visual das vacas e sem contato físico. Nesse período, foi fornecida água à vontade aos bezerros.

A avaliação das estruturas ovarianas foi realizada por ultrassonografia transretal com o aparelho previamente descrito. Nos dias 0 e 9 do protocolo, avaliou-se o diâmetro do maior folículo presente nos ovários, obtido pela média do maior diâmetro visível ao ultrassom e o diâmetro perpendicular a ele. A avaliação da taxa de ovulação após o tratamento com GnRH foi realizada pela comparação entre as imagens

ultrassonográficas dos dias 0 e 7. A avaliação da taxa de ovulação após o tratamento com BE foi realizada pela comparação entre as imagens dos dias 9 e 10.

Os dados referentes a diâmetro folicular foram analisados utilizando-se o procedimento GLM do programa SAS/2001. Os dados foram previamente testados quanto à normalidade dos resíduos (teste Shapiro-Wilk) e a homogeneidade das variâncias (teste F máximo) e constatou-se que os mesmos obedeceram às premissas necessárias para a análise. Para a análise da variável dependente diâmetro do folículo no dia 0, o modelo incluiu os efeitos de RB1, a ciclicidade e a interação. Escore de condição corporal foi considerado covariável. Para a análise da variável dependente diâmetro do folículo no dia 9, o modelo incluiu os efeitos de RB2, a ovulação ao GnRH e as interações.

¹Aparelho Aloka 500V (com transdutor linear retal de 7,5 MHz) - Tóquio, Japão.

²Merial Saúde Animal - Campinas, Brasil.

³Pfizer Saúde Animal - Guarulhos, Brasil.

⁴Farmavet - São Paulo, Brasil.

Escore de condição corporal foi considerado covariável.

Os dados referentes às taxas de ovulação aos estímulos ovulatórios foram analisados por meio do procedimento LOGISTIC do programa SAS/2001. Para a análise da variável dependente taxa de ovulação após o tratamento com GnRH, o modelo incluiu os efeitos de RB1, a ciclicidade e a interação. O diâmetro do foliculo no dia 0 foi considerado covariável. Para a análise da variável dependente taxa de ovulação após o tratamento com BE, o modelo incluiu os efeitos de RB2, ovulação após o tratamento com GnRH e as interações. O diâmetro do foliculo no dia 9 foi considerado covariável. Para todas as análises, adotou-se o nível de 5% de significância.

No experimento 2, avaliou-se o efeito da remoção de bezerros em dois momentos do protocolo de sincronização da ovulação com GnRH-PGF_{2α}-BE sobre as taxas de prenhez após inseminação artificial em tempo fixo.

Foram utilizadas 376 vacas Nelore lactantes (45 a 120 dias pós-parto) com escore de condição corporal entre 2,25 e 3,5 (escala de 1 a 5; Maciel, 2006) pertencentes à mesma fazenda citada no experimento 1. As vacas foram mantidas em pasto de *Brachiaria decumbens* com água e sal mineral *ad libitum*. As vacas foram aleatoriamente distribuídas aos seguintes tratamentos: tratamento 1 (controle; n=94) – no dia 0, injeção IM de 100µg de análogo de GnRH (1,0mL de Cystorelin); no dia 7, injeção IM de 25mg de análogo de PGF_{2α} (5,0mL de Lutalyse); no dia 8, injeção IM de 1,0mg de benzoato de estradiol (1,0mL de Estrogin); tratamento 2 (n=93) – semelhante ao tratamento 1, porém com remoção temporária de bezerros por 48 horas entre os dias -2 e 0 (RB1); tratamento 3 (n=95) – semelhante ao tratamento 1, porém remoção temporária de bezerros por 48 horas entre os dias 7 e 9 (RB2); tratamento 4 (n=94) – semelhante ao tratamento 1, porém com remoção temporária de bezerros por 48 horas entre os dias -2 e 0 (RB1) e entre os dias 7 e 9 (RB2).

Durante as 48 horas de cada remoção temporária, os bezerros foram separados das vacas em currais, de forma a ficarem ao alcance visual das vacas e sem contato físico. Nesse período, água foi fornecida à vontade aos bezerros.

A inseminação artificial foi realizada 24 a 30 horas após o tratamento com BE, pelo mesmo técnico e com sêmen do mesmo touro, utilizando-se somente partidas dentro dos padrões de qualidade recomendados pelo Ministério da Agricultura. O diagnóstico de gestação foi realizado por ultrassonografia 30 dias após a IATF.

Os dados referentes à taxa de prenhez aos tratamentos foram analisados por meio do procedimento LOGISTIC do programa SAS/2001. O modelo incluiu os efeitos de RB1, RB2 e a interação. O escore de condição corporal das vacas foi considerado covariável. Detectada significância (P<0,05), realizaram-se comparações das médias, por meio dos seguintes contrastes: tratamento 1 vs. tratamento 2 (C1); tratamento 1 vs. tratamento 3 (C2); tratamento 1 vs. tratamento 4 (C3).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No experimento 1, independente de ciclicidade, a taxa de ovulação após o tratamento com GnRH foi influenciada pelo diâmetro do foliculo no dia 0 (P<0,01; Fig. 1). Similarmente, observou-se efeito linear positivo do diâmetro do foliculo no dia 9 na taxa de ovulação após o tratamento com BE (P<0,01; Fig. 1). A aquisição de capacidade ovulatória pelo foliculo dominante ocorre logo após a divergência (Sartori et al., 2001; Gimenes et al., 2007), entretanto, nesse momento, é necessária alta dose de LH para que a ovulação seja induzida (Sartori et al., 2001). Conforme o foliculo dominante cresce, elevam-se a expressão gênica de receptores de LH nas células da granulosa (Bao et al., 1997) e a atividade do AMPc em resposta ao LH (Jolly et al., 1994), resultando em maior capacidade ovulatória (Sartori et al., 2001). Isso explica a maior probabilidade de ovulação observada nas vacas com maiores foliculos.

Nas vacas em anestro, a remoção temporária de bezerros aumentou o diâmetro do foliculo no dia 0 e a taxa de ovulação ao GnRH, enquanto nas vacas cíclicas tais efeitos não foram observados (Tab. 1). Em vacas com bezerro ao pé, os efeitos supressores da amamentação na secreção de GnRH/LH impedem a manutenção do crescimento folicular após a divergência (Wiltbank et al., 2002), momento em que o foliculo se torna dependente da secreção pulsátil

Remoção temporária de bezeros...

de LH (Ginther et al., 2001). Dessa forma, o folículo dominante entra em atresia antes de ter capacidade para produzir estradiol suficiente para induzir pico de LH (Wiltbank et al., 2002). A remoção temporária de bezeros é uma estratégia que aumenta a frequência de pulsos de LH, de forma que, quando aplicada a um animal em anestro, o mesmo apresenta secreção de LH semelhante à que ocorre no proestro (Williams et

al., 1983). Portanto, o maior diâmetro folicular observado no dia 0 nas vacas submetidas à remoção temporária de bezeros é, provavelmente, resultante do aumento na frequência de pulsos de LH e consequente manutenção do folículo dominante em crescimento. O maior diâmetro folicular nesse grupo contribuiu para que os animais apresentassem maior taxa de ovulação.

Tabela 1. Diâmetro folicular no dia 0 e taxa de ovulação após aplicação de GnRH em vacas Nelore em anestro ou cíclicas submetidas ou não à remoção temporária de bezeros (RB; 48 horas) antes do primeiro estímulo ovulatório do protocolo GnRH-PGF_{2α}-BE

Variável dependente	Com RB1	Sem RB1	Valor de P
Vacas em anestro			
Diâmetro folicular (d0)	10,6±0,22mm	9,9±0,22mm	<0,05
Taxa de ovulação (%)	85,4 (41/48)	49,0 (25/51)	<0,01
Vacas cíclicas			
Diâmetro folicular (d0)	9,9±0,49mm	9,6±0,47mm	>0,05
Taxa de ovulação (%)	57,9 (11/19)	52,4 (11/21)	>0,05

Estudo prévio demonstrou que a remoção temporária de bezeros aumentou a quantidade de LH secretado após estímulo com GnRH exógeno (Smith et al., 1983), sendo esse também um provável fator que contribuiu para a maior taxa de ovulação ao GnRH nas vacas submetidas à remoção temporária de bezeros. Nas vacas cíclicas, a ausência de efeito da remoção temporária dos bezeros pode ser compreendida, pois, no momento em que ela se realizou, uma alta porcentagem dos animais apresentava concentração elevada de progesterona, que provavelmente impede elevação na frequência de pulsos de LH (Stock e Fortune, 1993).

A resposta ao primeiro estímulo ovulatório é fundamental para garantir que os animais tratados estejam em fases semelhantes da onda folicular no final do protocolo. Em vacas da raça Holandesa que responderam ao primeiro estímulo ovulatório do protocolo Ovsynch (GnRH-PGF_{2α}-GnRH), a taxa de ovulação ao segundo estímulo variou de 87,2% (Santos et al., 2003) a 92,0% (Vasconcelos et al., 1999), enquanto em vacas que não responderam ao primeiro estímulo, a variação foi de 63,6% (Santos et al., 2003) a 79,0% (Vasconcelos et al., 1999).

No presente experimento, verificou-se que os animais em anestro que ovularam ou não após o tratamento com GnRH apresentaram a mesma probabilidade de ovulação após o tratamento

com BE ((66,6% (66/99); P>0,1)).

Entretanto, nesses animais, a ovulação ao primeiro estímulo ovulatório é fundamental para que ocorra a concepção. A primeira ovulação pós-parto é sucedida por um ciclo estral de duração reduzida em aproximadamente 80% das vacas zebuínas (Sá Filho, 2007) ou taurinas (Stagg et al., 1998), com regressão lútea após cinco a sete dias pós-ovulação (Sá Filho, 2007) devido à secreção prematura de PGF_{2α} pelo endométrio (Copelin et al., 1987). Apesar de não conhecido o motivo da secreção prematura de PGF_{2α} pelo útero, tem sido proposto que esse fenômeno seja decorrente da ausência de exposição à progesterona previamente à ovulação (Sá Filho, 2007) e/ou de baixas concentrações circulantes de estradiol pré-ovulatório (Mann e Lamming, 2000).

O protocolo utilizado nesse experimento empregou benzoato de estradiol como estímulo ovulatório, provavelmente corrigindo o problema da baixa concentração pré-ovulatória desse esteroide. Entretanto, estudos recentes têm demonstrado que a suplementação com estradiol exógeno para elevar a concentração circulante pré-ovulatória desse esteroide não é eficaz em reduzir a secreção de PGF_{2α} (Kieborz-Loos et al., 2003; Satrapa, 2007) e a incidência de luteólise prematura (Sá Filho, 2007), se os animais não forem previamente expostos à progesterona.

Observa-se que a ovulação ao GnRH no protocolo utilizado neste experimento é fundamental para a obtenção de taxa de prenhez satisfatória, pois interfere na probabilidade de ovulação após o tratamento com BE e na manutenção do corpo lúteo após a ovulação. Vacas em anestro que não ovulam ao primeiro estímulo ovulatório (GnRH) poderão ovular ao segundo estímulo (BE), sem, no entanto, terem sido expostas previamente à progesterona, e apresentarão luteólise prematura (Sá Filho, 2007). Em animais em anestro, a ovulação ao primeiro estímulo ovulatório do protocolo é, portanto, além de um método de sincronizar a onda folicular, um método de expor as vacas à progesterona previamente à inseminação, evitando luteólise prematura e possibilitando a manutenção da gestação.

O diâmetro folicular no dia 9 não foi influenciado por ovulação após o tratamento com GnRH (10,19±0,38mm; P>0,1). Independente de ter ovulado ou não após o tratamento com GnRH, as vacas submetidas à RB2 apresentaram maior diâmetro folicular no dia 9 em relação às não

submetidas (P<0,05; Tab. 2). Novamente, o efeito da remoção temporária de bezerros sobre a pulsatilidade de LH é a provável razão para este resultado. Nesse momento do protocolo, entretanto, a remoção temporária de bezerros resultou em aumento do diâmetro folicular tanto em vacas cíclicas como em vacas em anestro. O provável motivo da diferença na ação da remoção de bezerros nos dois momentos, em animais ciclando, é que, no primeiro momento (RB1), as vacas cíclicas apresentavam concentrações de progesterona maiores que 1,0ng/mL, como discutido, enquanto, no segundo momento (RB2) todos os animais haviam recebido PGF_{2α} no dia 7 e, portanto, as concentrações de progesterona encontravam-se abaixo de 1,0ng/mL, permitindo elevação na frequência de pulsos de LH. O maior diâmetro folicular observado no dia 9 nas vacas que receberam RB2 explica o efeito de RB2 na taxa de ovulação após aplicação de BE (P<0,01; Tab. 2), o que está de acordo com estudos prévios que mostraram que a remoção temporária de bezerros no período do proestro aumenta a taxa de ovulação (Troxel et al., 1980).

Tabela 2. Diâmetro folicular ao final da remoção temporária de bezerros e taxa de ovulação após aplicação de BE em vacas Nelore submetidas ou não à remoção temporária de bezerros (RB; 48 horas) após a injeção de PGF_{2α} do protocolo GnRH-PGF_{2α}-BE

Variável dependente	Com RB2	Sem RB2	Valor de P
Diâmetro folicular (d9)	10,8±0,14mm	10,4±0,14mm	<0,05
Taxa de ovulação (%)	79,1 (53/67)	58,3 (42/72)	<0,01

No experimento 2, a taxa de prenhez após a IATF foi maior nas vacas submetidas a duas remoções de bezerros em relação ao tratamento-controle. Os demais tratamentos que utilizaram somente uma remoção de bezerros associada ao protocolo não diferiram do tratamento controle (Tab. 3). Os resultados podem ser compreendidos considerando os dados referentes ao experimento 1. Sugere-se que o tratamento-controle resultou em baixa taxa de prenhez, provavelmente por apresentar baixa taxa de ovulação após o tratamento com GnRH, havendo portanto poucos animais com exposição à progesterona antes da ovulação, associado a uma baixa taxa de ovulação após o tratamento com BE. Portanto, provavelmente houve baixa resposta ao segundo estímulo ovulatório e nos animais que responderam, a taxa de concepção foi baixa. A baixa taxa de prenhez observada no tratamento-controle é semelhante aos resultados obtidos por Fernandes et al. (2001), em que a taxa de prenhez após o protocolo GnRH-PGF_{2α}-

BE foi mais baixa em vacas Nelore em anestro (14,7%) em relação às vacas cíclicas (43,3%). Os animais submetidos ao tratamento 2 (com apenas RB1) provavelmente apresentaram alta taxa de ovulação após o tratamento com GnRH, fator que proporcionou exposição à progesterona antes da indução da ovulação com BE, entretanto a taxa de ovulação após o tratamento com BE foi baixa, pois os animais desse grupo não tiveram o estímulo da remoção de bezerros durante o proestro. Vasconcelos et al. (2004) trataram vacas em anestro com dispositivo intravaginal de progesterona por sete dias e avaliaram os efeitos da remoção de bezerros (48 horas) após a retirada dos dispositivos sobre parâmetros reprodutivos. Verificaram que a taxa de detecção de estro nos três dias que sucederam à retirada dos dispositivos de progesterona foi maior nas vacas submetidas à remoção de bezerros (41,4% vs. 17,8%), o que contribuiu para maior taxa de prenhez nesse período (24,3% vs. 8,2%).

Remoção temporária de bezerros...

Tabela 3. Taxa de prenhez à inseminação artificial em tempo fixo em vaca Nelore submetidas à remoção temporária de bezerros (RB; 48 horas) em dois momentos do protocolo GnRH-PGF_{2α}-BE

Tratamento (RB1/RB2)	Taxa de prenhez à IATF	Contraste	Valor de P
1 (Não/Não)	10,6% (10/94)	-	-
2 (Sim/Não)	16,1% (15/93)	C1 (Trat. 1 vs. 2)	>0,05
3 (Não/Sim)	13,7% (13/95)	C2 (Trat. 1 vs. 3)	>0,05
4 (Sim/Sim)	29,8% (28/94)	C3 (Trat. 1 vs. 4)	<0,05

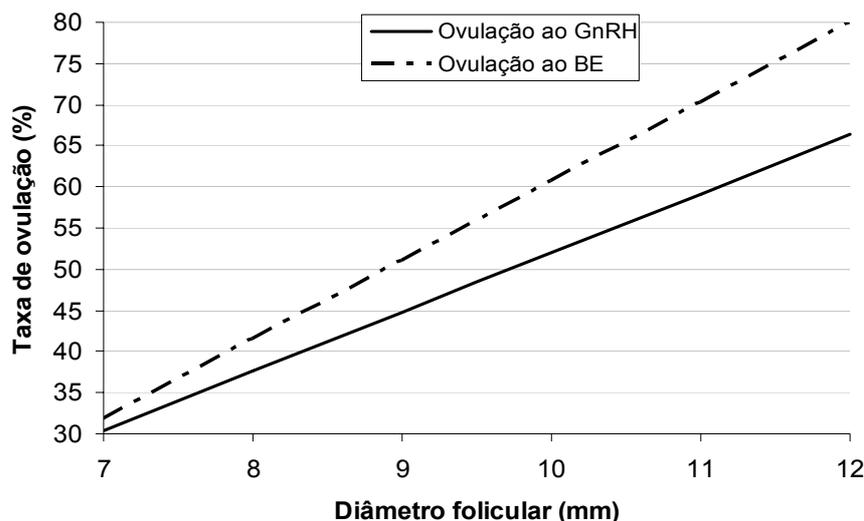


Figura 1. Relação entre diâmetro do maior folículo presente nos ovários e taxa de ovulação ao GnRH ($P<0,01$) e ao BE ($P<0,01$) em vacas Nelore pós-parto tratadas com o protocolo GnRH-PGF_{2α}-BE.

Outros trabalhos também demonstraram incremento da taxa de prenhez quando se removeram temporariamente os bezerros após tratamentos hormonais (Yelich et al., 1995; Geary et al., 2001). Os animais submetidos ao tratamento 3 (apenas RB2) provavelmente apresentaram alta taxa de ovulação após o tratamento com BE, entretanto, como não foram submetidos à RB1, a taxa de ovulação após o tratamento com GnRH foi provavelmente baixa, havendo poucos animais com pré-exposição à progesterona, fator que deve ter contribuído para a baixa concepção nesse grupo. Quando vacas em anestro foram inseminadas sem prévia exposição à progesterona, a taxa de concepção foi 11,1%, ao passo que as inseminadas após sete dias de exposição à progesterona exógena apresentaram 54,8% de concepção (Vasconcelos et al., 2004). Nos animais do tratamento 4 (RB1 e RB2), provavelmente ocorreu maior ovulação após o tratamento com GnRH e com BE, sem luteólise prematura e, portanto, não houve os

problemas citados para os demais tratamentos, o que possibilitou melhores resultados em relação a eles.

Conclui-se que, no protocolo GnRH-PGF_{2α}-BE, a remoção temporária de bezerros antes do primeiro estímulo ovulatório aumentou o diâmetro folicular e a taxa de ovulação a esse estímulo em vacas em anestro, porém o mesmo não se verificou em animais ciclando ao início dos tratamentos. Além disso, a remoção temporária de bezerros, realizada após a injeção de PGF_{2α}, resultou em aumento do diâmetro folicular e da taxa de ovulação após o tratamento com BE, independente da ciclicidade no início do protocolo. A taxa de prenhez após o protocolo GnRH-PGF_{2α}-BE foi maior quando se associaram duas remoções de bezerros por 48 horas previamente aos estímulos ovulatórios do protocolo, sendo o efeito benéfico da remoção de bezerros sobre a resposta aos estímulos ovulatórios o provável motivo desse resultado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAO, B.; GARVERICK, H.A.; SMITH, G.W. et al. Changes in messenger ribonucleic acid encoding luteinizing hormone receptor, cytochrome P450-side chain cleavage, and aromatase are associated with recruitment and selection of bovine ovarian follicles. *Biol. Reprod.*, v.56, p.1158-1168, 1997.
- BARROS, C.M.; MOREIRA, M.B.P.; FIGUEIREDO, A.R. et al. Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF_{2α} and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.53, p.1121-1134, 2000.
- COPELIN, J.P.; SMITH, M.F.; GARVERICK, H.A. et al. Effect of the uterus on subnormal luteal function in anestrous beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.64, p.1506-1511, 1987.
- EDWARDS, S. The effect of short term calf removal on pulsatile LH secretion in the postpartum beef cow. *Theriogenology*, v.23, p.777-785, 1985.
- FERNANDES, P.; TEIXERIA, A.B.; CROCCI, A.J. et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist. PGF_{2α} and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.55, p.1521-1532, 2001.
- GEARY, T.W.; WHITTIER, J.C.; HALLFORD, D.M. et al. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. *J. Anim. Sci.*, v.79, p.1-4, 2001.
- GIMENES, L.U.; CARVALHO, N.A.T.; SÁ FILHO, M.F. et al. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Reprod. Fertil. Dev.*, v.19, p.242, 2007. (Abstract).
- GINTHER, O.J.; BEG, M.A.; BERGFELT, D.R. et al. Follicle selection in monovular species. *Biol. Reprod.*, v.65, p.638-647, 2001.
- HANLON, D.W., WILLIAMSON N.B., WICHTEL J.J. Ovulatory response and plasma luteinizing hormone concentrations in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone and estradiol benzoate. *Theriogenology*, v.47, p.963-975, 1997.
- JOLLY, P.D.; TISDALL, D.J.; HEATH, D.A. et al. Apoptosis in bovine granulosa cells in relation to steroid synthesis, cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate response to follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone, and follicular atresia. *Biol. Reprod.*, v.51, p.934-944, 1994.
- KIEBORZ-LOOS, K.R.; GARVERICK, H.A.; KEISLER, D.H. et al. Oxytocin-induced secretion of prostaglandin F_{2α} in postpartum beef cows: Effects of progesterone and estradiol-17β treatment. *J. Anim. Sci.*, v.81, p.1830-1836, 2003.
- MACIEL, A.B.B. *Proposta de avaliação da condição corporal em vacas Holandesas e Nelore*. 2006. 58f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.
- MANN, G.E.; LAMMING, G.E. The role of sub-optimal preovulatory oestradiol secretion in the aetiology of premature luteolysis during the short oestrous cycle in the cow. *Anim. Reprod. Sci.*, v.64, p.171-180, 2000.
- MENEGHETTI, M.; VASCONCELOS, J.L.M. Mês de parição, condição corporal e resposta a protocolos de inseminação artificial em tempo fixo em vacas de corte primíparas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, p.786-793, 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. *J. Reprod. Fertil.*, v.90, p.523-533, 1990.
- PURSLEY, J.R.; MEE, M.O.; WILTBANK, M.C. Synchronization of ovulation in dairy cattle using GnRH and PGF_{2α}. *Theriogenology*, v.44, p.915-923, 1995.
- SÁ FILHO, O.G. *Efeito de tratamentos com progesterone e/ou estradiol na incidência de regressão prematura do corpo lúteo após a primeira ovulação em vacas Nelore pós-parto*. 2007. 136f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.
- SANTOS, R.M.; VASCONCELOS, J.L.M.; MENEGHETTI, M. et al. Effects of the ovulatory response to the first GnRH injection on synchronization and pregnancy rates in lactating dairy cows. *J. Anim. Sci.*, v.86, suppl.1, p.185, 2003. (Abstract).
- SARTORI, R.; FRICKE, P.M.; FERREIRA, J.C.P. et al. Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.*, v.65, p.1403-1409, 2001.

- SATRAPA, R.A. *Produção de 13,14-diidro 15-ceto prostaglandina F_{2α} (PGFM) em resposta à ocitocina no período pós-parto em vacas da raça Nelore*. 2007. 89f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu.
- SMITH, M.F.; LISHMAN, A.W.; LEWIS, G.S. et al. Pituitary and ovarian responses to gonadotropin releasing hormone, calf removal and progestogen in anestrous beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.57, p.418-424, 1983.
- STAGG, K.K.; SPICER, L.J.; SREENAN, J.M. et al. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum. *Biol. Reprod.*, v.59, p.777-783, 1998.
- STEVENSON, J.S.; KNOPPEL, E.L.; MINTON, J.E. et al. Estrus, ovulation, luteinizing hormone, and suckling-induced hormones in mastectomized cows with and without unrestricted presence of the calf. *J. Anim. Sci.*, v.72, p.690-699, 1994.
- STOCK, A.E.; FORTUNE, J.E. Ovarian follicular dominance in cattle: Relationship between prolonged growth of the ovulatory follicle and endocrine parameters. *Endocrinology*, v.132, p.1108-1114, 1993.
- THATCHER, W.W.; DROST, M.; SAVIO, J.D. et al. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, v.33, p.27-49, 1993.
- TROXEL, T.R.; KESLER, D.J.; NOBLE, R.C. et al. Ovulation and reproductive hormones following steroid pretreatment, calf removal and GnRH in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.*, v.51 p.652-659, 1980.
- TWAGIRAMUNGU, H.; GUIBAULT, L.A.; PROULX, J. et al. Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*, v.38, p.1131-1144, 1992.
- VASCONCELOS, J.L.M.; PEREZ, G.C.; SANTOS, R.M. et al. Progesterone intravaginal device and/or calf removal on anestrous Angus crossbred cows during a 60-days breeding season. *J. Anim. Sci.*, v.82, suppl.1, p.67, 2004. (Abstract).
- VASCONCELOS, J.L.M.; SILCOX, M.R.W.; PURSLEY, J.R. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, v.52, p.1067-1078, 1999.
- WILLIAMS, G.L.; TALAVERA, F.; PETERSEN, B.J. et al. Coincident secretion of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in early postpartum beef cows: effects of suckling and low-level increases of systemic progesterone. *Biol. Reprod.*, v.29, p.362-373, 1983.
- WILTBANK, M.C.; GUMEN, A.; SARTORI, R. Physiological classification of anovulatory conditions in cattle. *Theriogenology*, v.57, p.21-52, 2002.
- YAVAS, Y.; WALTON, J.S. Postpartum acyclicity in suckled beef cows: a review. *Theriogenology*, v.54, p.25-55, 2000.
- YELICH, J.V.; HOLLAND, M.D.; SCHUTZ, D.N. et al. Synchronization of estrus in suckled postpartum beef cows with melengestrol acetate, 48-hour calf removal and PFG_{2α}. *Theriogenology*, v.43, p.401-410, 1995.