

Efeito do diâmetro do folículo ovulatório na concepção e manutenção da gestação

Michael F. Smith¹, Ky G. Pohler¹, George A. Perry², Jacqueline A. Atkins¹, and Thomas W. Geary³

¹Division of Animal Sciences, University of Missouri, Columbia, MO

²Department of Animal and Range Sciences, South Dakota State University, Brookings, SD

³Livestock and Range Research Laboratory, USDA-ARS, Miles City, MT

Pontos a serem lembrados:

É a maturidade do folículo dominante e não o tamanho do folículo dominante que afeta a taxa de prenhez em vacas de corte pós-parto após a inseminação artificial em tempo fixo (IATF).

A indução da ovulação com GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina) de um folículo dominante fisiologicamente imaturo diminui a taxa de prenhez e a taxa de sobrevivência tanto no estágio embrionário mais avançado quanto no estágio fetal.

Diminuição da fertilidade após a ovulação induzida por GnRH de um folículo dominante fisiologicamente imaturo foi associado à concentrações reduzidas de estradiol no momento da inseminação e também à menor taxa de secreção luteal de progesterona após a inseminação.

Em vacas de corte pós-parto, folículos dominantes pequenos geralmente são devido a falha em sincronizar a onda folicular no início do protocolo de sincronização de estro.

Estratégias para aumentar a maturidade fisiológica do folículo dominante têm focado em aumentar a estimulação gonadotrópica do folículo ovulatório durante o período pré-ovulatório, através do aumento da duração do proestro, da remoção temporária de bezerro, e da estimulação gonadotrópica exógena (PMSG/eCG).

Introdução

Embora a inseminação artificial (IA) seja a ferramenta mais poderosa para o melhoramento genético, os criadores nos EUA têm adotado o uso dessa tecnologia lentamente, devido ao tempo e à mão de obra associados à detecção de cio, e a estrutura de mercado que até recentemente não forneceu incentivo aos criadores para enfatizar o melhoramento genético dos seus rebanhos. No entanto, o desenvolvimento de protocolos de sincronização de estro que sincronizam precisamente o período de ovulação têm aumentado a adoção da inseminação em tempo fixo (IATF). Além disso, houve mudança na estrutura de mercado nos EUA, que reconhece e propicia incentivo econômico para o melhoramento genético (por exemplo, benefícios para alta qualidade de carcaça), que também tem contribuído para o aumento do uso de IATF pelos produtores de gado de corte.

Os protocolos de sincronização de estro atuais têm sido eficazes em sincronizar o momento da ovulação e, portanto, as futuras pesquisas devem enfatizar no entendimento dos mecanismos que aumentam a maturidade fisiológica do folículo dominante antes da indução da ovulação com o GnRH, para identificar fatores que afetam a mortalidade embrionária tardia/fetal após IATF, e identificar touros que funcionam bem em protocolos de IATF. O objetivo desse artigo é analisar o efeito do tamanho do folículo ovulatório nos programas de IATF nas taxas de prenhez e de sobrevivência embrionária/fetal, discutir o porque de alguns folículos fisiologicamente imaturos estão presentes na IATF, e discutir algumas estratégias para aumentar a maturidade fisiológica do folículo ovulatório.

Visão geral da sincronização da ovulação

O uso de hormônios exógenos que controlam com precisão o momento da ovulação têm sido implementados em espécies de animais domésticos e seres humanos. Em bovinos, sincronização de estro/ovulação e inseminação artificial (IA) continuam sendo as tecnologias mais poderosas disponíveis em melhoramento genético e manejo reprodutivo para os pecuaristas (Seidel, 1995). No entanto, a adoção do uso dessas tecnologias pelos produtores de

bovinos de corte tem sido relativamente baixa devido ao tempo e à mão-de-obra associados à detecção de cio. Assim sendo, foram desenvolvidos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) que eliminam a necessidade da detecção de cio e que permitem a inseminação de novilhas e vacas em momento pré-determinado, e que resultam em taxas de prenhez semelhantes às de inseminações seguidas da detecção de cio. Além disso, protocolos de IATF aumentam a proporção de novilhas e vacas prenhes no início da estação de monta, beneficiando o manejo reprodutivo e a produção de carne.

O desenvolvimento de protocolos de IATF eficazes em bovinos requer o controle dos seguintes processos fisiológicos: 1) Sincronização da onda folicular após um estímulo ovulatório (por exemplo, injeção de hormônio liberador de gonadotrofina [GnRH]), ou indução da regressão do folículo dominante (por exemplo, administração de estradiol ou progesterona) resultando no desenvolvimento de um folículo dominante fisiologicamente maduro no momento da inseminação; 2) Controle da fase luteal através da indução da luteólise com prostaglandina $F_{2\alpha}$ (PGF); 3) Indução da ovulação com GnRH de um folículo dominante fisiologicamente maduro; e 4) Deposição do sêmen no momento apropriado relativo à indução da ovulação. A sequência de injeções GnRH-PGF-GnRH (Figura 1A) baseia-se na idéia de que a injeção inicial de GnRH irá induzir a ovulação do folículo dominante resultando na sincronia da uma nova onda folicular, seguida pela administração de PGF 7 dias depois, para induzir a luteólise. Aproximadamente 60-72 horas após a administração de PGF, a segunda injeção de GnRH é administrada para induzir ovulação do folículo dominante fisiologicamente maduro, e a inseminação normalmente ocorre concomitante com a segunda injeção de GnRH (Figura 1A). Essencialmente, todos os protocolos de IATF nos EUA são variações na sequência de injeções GnRH-PGF-GnRH, com algumas diferenças no momento da inseminação.

Qual é o efeito do tamanho do folículo ovulatório na prenhez de novilhas e vacas?

Em bovinos *Bos taurus* e *Bos indicus*, a capacidade ovulatória do folículo é obtida entre 7 e 10 mm de diâmetro (Sartori et al., 2001; Gimenes et al., 2008), e está associada com a aquisição de receptores de LH nas células da granulosa. No entanto, uma dose maior de LH foi

necessária para induzir a ovulação de folículos menores que 10 mm do que de folículos maiores (Sartori et al., 2001), sugerindo uma diferença na maturidade fisiológica entre folículos pequenos e grandes.

Tamanho do folículo ovulatório e taxas de prenhez:

O tamanho do folículo ovulatório na ovulação espontânea ou induzida por GnRH é variável em bovinos (Tabela 1). Em vacas de corte pós-parto, o tamanho do folículo ovulatório varia de ≤ 12 mm a ≥ 18 mm, com uma média de 15.0 ± 0.3 (Lamb et al., 2001). Neste estudo, houve diminuição na taxa de prenhez após a indução da ovulação com GnRH de folículos ≤ 12.0 mm independente do tratamento. Perry et al. (2005) também relataram diminuição nos índices de prenhez após a indução da ovulação de folículos pequenos com GnRH; no entanto, não houve efeito nas taxas de prenhez quando folículos do mesmo tamanho (pequenos) ovularam espontaneamente (Figura 2). Em vacas de leite, a indução da ovulação com GnRH de folículos dominantes resultou em relação quadrática entre tamanho do folículo e estabelecimento da prenhez, em que a taxa de prenhez aumentou proporcionalmente com o aumento do tamanho do folículo até um certo tamanho e depois decresceu (Bello et al., 2006). Outros pesquisadores também relataram que a indução da ovulação de folículos pequenos fisiologicamente imaturos reduziu as taxas de prenhez em bovinos de corte e leite (Vasconcelos et al., 2001; Waldmann et al., 2006; Perry et al., 2007; Dias et al., 2009; Meneghetti et al., 2009; Peres et al., 2009; Sa Filho et al., 2009; Sa Filho et al., 2010; ver Tabela 1).

Tamanho do folículo ovulatório e mortalidade embrionária tardia/fetal:

Aumento na mortalidade embrionária tardia/fetal (ou seja, perda da prenhez entre os dias 28 e 60) foi relatado em vacas induzidas a ovular folículos < 11.3 mm; no entanto, a mortalidade embrionária tardia/fetal não foi afetada pelo tamanho do folículo ovulatório em vacas que ovularam espontaneamente (Figura 2; Perry et al., 2005). Quando vacas de leite em lactação receberam a segunda injeção de GnRH e foram subsequentemente inseminadas, houve incidência de 20,2% de perda embrionária tardia/fetal após a confirmação de prenhez no dia 28, com a maioria das perdas ocorrendo entre os dias 28 e 42 (Vasconcelos et al., 1997). Esses dados sugerem que o tamanho do folículo ovulatório além de afetar o estabelecimento da

prenhez, também afeta a manutenção da gestação. No entanto, o tamanho do folículo ovulatório não afetou a taxa de prenhez nem a sobrevivência embrionária tardia/fetal em vacas que ovularam espontaneamente (Perry et al., 2005). Coletivamente, essas observações sugerem que a redução no estabelecimento e na manutenção da prenhez é devido a imaturidade fisiológica do folículo ovulatório ao invés do tamanho do folículo.

Por que novilhas e vacas têm folículos dominantes pequenos na IATF?

Após a observação de que a indução da ovulação com GnRH de folículos dominantes pequenos reduz as taxas de prenhez e de sobrevivência embrionária tardia/fetal, almeja-se entender o que causa a presença de folículos dominantes pequenos na IATF, e como é possível reduzir a proporção de folículos dominantes pequenos na IATF. A administração da primeira injeção de GnRH (GnRH-1) 7 dias antes da administração de PGF, e a segunda injeção de GnRH (GnRH-2) concomitante com a IATF 48 horas após a PGF tem sido utilizados para inseminar vacas de corte em momento pré-determinado (CO-Synch; Geary et al., 1998). Espera-se que com o GnRH-1, o folículo dominante irá ovular, resultando na emergência de uma nova onda folicular, de modo que um folículo pré-ovulatório viável estará presente no momento da IATF; no entanto, aproximadamente 50% das novilhas e 66% das vacas pós-parto obtém um folículo dominante capaz de responder a uma injeção única de GnRH. É lógico que folículos dominantes pequenos presentes no momento da administração do GnRH-2 (IATF) pode ser resultante do fato do folículo dominante no momento do GnRH-1 não ovular, e portanto não iniciará uma nova onda folicular. Consequentemente, no momento do GnRH-2 haverá vacas em que a nova onda folicular foi corretamente sincronizada, e também haverá vacas em que a nova onda de crescimento folicular não foi sincronizada. Há a hipótese de que as vacas que não tiveram a onda folicular sincronizada serão as que apresentarão um folículo dominante pequeno no momento do GnRH-2. Como alternativa, uma taxa de crescimento mais lenta do folículo dominante, também poderia resultar em um folículo dominante pequeno no momento do GnRH-2. Nossa hipótese era que o dia do ciclo estral em que o GnRH-1 era administrado poderia afetar a taxa de crescimento folicular, o diâmetro, e maturidade fisiológica do folículo

ovulatório no momento do GnRH-2. Portanto, nós testamos essa hipótese em novilhas e vacas de corte pós-parto ciclando ou em anestro. Em cada um dos seguintes experimentos o protocolo CO-Synch (GnRH-1 no dia -9, PGF no dia -2, e GnRH-2 no dia 0) foi utilizado. Os resultados desses estudos estão descritos abaixo.

Novilhas de corte:

Indução da ovulação de folículos dominantes pequenos em novilhas de corte diminui a taxa de prenhez após a IATF (Perry et al., 2007); no entanto, a razão da presença de folículos dominantes pequenos no momento do GnRH-2 não foi esclarecida. Os objetivos desse estudo foram: 1) Determinar o efeito da resposta ovulatória ao GnRH-1 sobre o diâmetro e a variação do diâmetro do maior folículo no momento do GnRH-2; 2) Determinar o efeito do dia do ciclo estral (estágio da onda folicular) sobre a liberação induzida por GnRH do hormônio luteinizante (LH) e, conseqüentemente, a resposta ovulatória ao GnRH-1 e 2. Dois experimentos foram conduzidos utilizando novilhas de corte *Bos taurus*, que foram sincronizadas para estarem em dias diferentes do ciclo estral (dias 2, 5, 10, 15, e 18 após o estro), em que o folículo dominante seria ou não responsivo ao GnRH-1. No Exp. 1, a resposta ovulatória após o GnRH-1 e o GnRH-2 foram afetados pelo dia do ciclo estral em que o GnRH-1 foi administrado (Tabela 2). A resposta ovulatória ao GnRH-1 não influenciou o tamanho ou a variação no diâmetro do folículo maior no momento do GnRH-2 nos Exp. 1 e 2 (Tabela 3). No Exp. 2, a onda de LH induzida pelo GnRH foi de maior magnitude em novilhas que receberam o GnRH-1 no dia 18 do ciclo estral seguido pelos dias 5, 15, 10, e 2 (9,054^b, 5,774^{bc}, 4,672^c, 2,548^c, e 915^d unidades arbitrárias; respectivamente; ^{abcd} $P < 0.05$). Em resumo, a presença de folículos dominantes pequenos no momento do GnRH-2 não foi influenciada pela resposta ovulatória ao GnRH-1 (Tabela 3). O dia do ciclo estral no momento do GnRH-1 afetou o tamanho do folículo dominante e a resposta ovulatória ao GnRH-2. Novilhas que receberam o GnRH-1 na última parte do ciclo estral tiveram maior incidência de luteólise antes da administração de PGF e apresentaram cio independentemente da presença de um CL acessório após a injeção de GnRH-1, que resultou em folículos menores no momento do GnRH-2. Portanto, a pré-sincronização para obter novilhas no início do ciclo estral (\leq dia 10) no momento do GnRH-1 poderia aumentar a

proporção de novilhas com um folículo grande o suficiente para responder ao GnRH-2, e aumentar a resposta ovulatória ao GnRH-2.

Vacas de corte pós-parto:

Vacas de corte pós-parto ciclando: O ciclo estral de vacas de corte foi manipulado de modo que as vacas estavam em dias específicos do ciclo estral (dias 2, 5, 9, 13, e 19, dia 0 = estro; n = 12 por tratamento) no início do protocolo CO-Synch. Como descrito acima no experimento das novilhas, os dias foram selecionados com base na previsão da presença ou não de um folículo dominante que, iria ou não responder ao GnRH-1 e ovular um folículo dominante oriundo da primeira, segunda, ou terceira onda folicular em resposta ao GnRH-2. O dia do ciclo estral no momento do GnRH-1 não afetou o tamanho do folículo pré-ovulatório ou a proporção de vacas ovulando em resposta ao GnRH-2 ($P = 0.65$ e 0.21 , respectivamente). Quando todas as vacas foram incluídas na análise, vacas que ovularam após o GnRH-1 tiveram folículos de tamanho semelhantes no momento do GnRH-2 em comparação com vacas que não ovularam após o GnRH-1 (11.4 e 10.4 mm, respectivamente; $P = 0.23$). Quando apenas as vacas que poderiam ovular após o GnRH-1 (excluindo as vacas que estavam no dia 2) foram incluídas na análise, vacas que ovularam em resposta ao GnRH-1 tiveram um folículo maior no momento do GnRH-2 do que vacas que não ovularam após o GnRH-1 (11.4 e 9.5 mm, respectivamente; $P = 0.04$). A taxa do crescimento folicular do dia -5 ao dia 0 (d 0 = GnRH-2) foi semelhante entre as vacas que ovularam e as que não ovularam após o GnRH-1 (1.01 vs. 0.89 mm/d, respectivamente; $P = 0.75$). Houve tendência de aumento da taxa de crescimento folicular nas vacas que ovularam um folículo grande (> 11 mm) em comparação com vacas que ovularam um folículo pequeno (≤ 11 mm; 1.01 vs. 0.86 mm/d; $P = 0.07$). As concentrações séricas de estradiol no GnRH-2 e de progesterona após a ovulação foram reduzidas em vacas que ovularam folículos pequenos em comparação com vacas que ovularam folículos grandes ($P = 0.006$ e < 0.05 , respectivamente). Em resumo, o dia do ciclo estral no início do protocolo de sincronização não afetou o tamanho do folículo ovulatório, porém a sincronização da nova onda folicular e a taxa de crescimento folicular influenciaram o tamanho do folículo no momento do GnRH-2.

Vacas de corte pós-parto em anestro: No início da estação de monta há um misto de vacas pós-parto ciclando e em anestro, que pode contribuir para a grande variação no diâmetro do folículo dominante no momento da indução da ovulação com o GnRH no protocolo CO-Synch (Tabela 1). Nossa hipótese era que a resposta ovulatória ao GnRH-1 e a exposição à progesterona (CIDR®) influenciaria o tamanho do folículo ovulatório no momento do GnRH-2 em vacas em anestro. Esse estudo (2x2 fatorial) utilizou vacas de corte lactantes (n = 55) e foi projetado da seguinte maneira: vacas que ovularam (Ov1+) ou não (Ov1-) após a administração de GnRH-1, e que receberam (CIDR+) ou não (CIDR-) a implantação do CIDR por 7 dias (entre GnRH-1 e PGF), resultando nos seguintes grupos de tratamento: Ov1+CIDR+, Ov1-CIDR+, Ov1+CIDR-, e Ov1-CIDR- (n = 9, 17, 11 e 18, respectivamente). As vacas no Ov1+ tiveram folículos maiores no momento do GnRH-2, menor proporção de folículos pequenos dentre as vacas que ovularam em resposta ao GnRH-2, e taxa de crescimento folicular semelhante ao folículo ovulatório entre os dias -5 e 0 (d 0 = GnRH-2) em comparação às vacas Ov1- (12.3 vs. 11.0 mm, 2/16 vs. 14/23, e 1.1 vs. 1.1 mm/d, respectivamente; $P = 0.04, 0.03$ e 0.99 , respectivamente). A implantação do CIDR não teve efeito sobre o diâmetro do folículo no momento do GnRH-2, na proporção de folículos ovulatórios pequenos no GnRH-2, e na taxa de crescimento folicular entre os dias -5 e 0 (d 0 = GnRH-2; 11.8 vs. 11.2 mm, 7/19 vs. 9/20, e 1.2 vs. 1.1 mm/d para vacas CIDR+ vs. CIDR-, respectivamente; $P = 0.3, 0.6$, e 0.76 , respectivamente). Administração do CIDR em vacas que não ovularam após o GnRH-1 (Ov1-) aumentou o crescimento folicular do dia -2 ao dia 0 (d 0 = GnRH-2; $P = 0.03$ e 0.9 , respectivamente). Folículos grandes (> 11 mm) tiveram taxa de crescimento folicular semelhante aos folículos pequenos (1.1 vs. 1.2 mm/d), entre os dias -5 e 0 (d 0 = GnRH-2; $P = 0.44$), porém os folículos ovulatórios grandes eram maiores no dia -5 comparado aos folículos pequenos ($P < 0.001$). Diâmetro do folículo foi positivamente correlacionado com a concentração sérica de estradiol no momento do GnRH-2 ($r = 0.622$; $P < 0.0001$). Em resumo, ovulação em resposta ao GnRH-1, mas não a administração do CIDR, resultou no aumento do diâmetro do folículo dominante no momento do GnRH-2 em vacas de corte lactantes em anestro. Folículos grandes já eram maiores 5 dias antes do GnRH-2, porém com taxa de crescimento semelhante aos folículos pequenos, e tamanho do folículo foi

positivamente correlacionado com as concentrações séricas de estradiol no momento da indução da ovulação com o GnRH.

Como aumentar a maturidade fisiológica do folículo dominante?

Como mencionado anteriormente, é a maturidade fisiológica do folículo dominante e não o diâmetro que afeta o estabelecimento e a manutenção da prenhez em bovinos de corte. O folículo dominante que é fisiologicamente maduro pode ser definido da seguinte maneira: 1) Possui um ovócito competente; 2) Secrete quantidades adequadas de estradiol durante o período pré-ovulatório; e 3) Tem a habilidade de formar um CL capaz de secretar quantidades adequadas de progesterona para o estabelecimento e manutenção da gestação. Secreção de gonadotropina durante o período pré-ovulatório tem sido apontado de muita importância para a aquisição de um ovócito competente, bem como a secreção de estradiol. Após a diminuição de progesterona na luteólise ou na retirada do CIDR há aumento na frequência da pulsatilidade do hormônio luteinizante (LH) na circulação, que estimula o folículo dominante a sintetizar e secretar estradiol durante o período pré-ovulatório. O estradiol tem efeito importante na manifestação de estro, na preparação do ambiente materno para a gestação e, talvez, na aquisição da competência do ovócito. Novilhas ou vacas que expressam o estro na IATF consistentemente têm taxas mais altas de prenhez do que novilhas ou vacas que não manifestam estro. Além disso, suplementação de estradiol no período pré-ovulatório aumentou as taxas de prenhez em vacas de corte pós-parto induzidas a ovular folículos dominantes pequenos. Abaixo está a descrição de três estratégias com o potencial de aumentar a quantidade da estimulação gonadotrópica do folículo dominante, resultando no aumento da secreção de estradiol durante o período pré-ovulatório.

Aumentar a duração do proestro:

Proestro é geralmente definido como o período entre o início da luteólise e o início do estro, em que o folículo dominante e o ovócito continuam o processo de maturação. Há várias evidências de que a duração do proestro pode afetar o estabelecimento da prenhez em

bovinos. Independentemente do diâmetro do folículo, a função luteal e o desenvolvimento embrionário foram reduzidos quando folículos ovularam após curto vs. longo proestro (Burke et al., 2001; Mussard et al., 2003, 2007; Bridges et al., 2006). Reduzir a duração do proestro resultou em função luteal inadequada após a ovulação, independente do diâmetro do folículo (Mussard et al., 2003). No mesmo estudo, as taxas de prenhez após a transferência de embrião foram menores em vacas com o proestro mais curto do que em vacas com o proestro mais longo (Mussard et al., 2003). Os dados anteriores fornecem um apoio adicional de que é a maturidade fisiológica do folículo e não somente o tamanho do mesmo que contribui para o estabelecimento e a manutenção da prenhez. No protocolo CO-Synch + CIDR, a remoção do CIDR após 5 dias ao invés de 7 dias aumenta a duração do proestro e, conseqüentemente, aumenta as taxas de prenhez em bovinos de corte (Bridges et al., 2008).

Remoção temporária de bezerro

Vacas de corte pós-parto em lactação com bezerro ao pé têm um período de anestro pós-parto mais longo do que vacas que amamentam apenas uma vez ao dia, ou que não amamentam (ver revisão Williams, 1990). Esse período de anestro prolongado é uma função direta da intensidade de sucção e da presença do bezerro ao pé, na frequência da pulsatilidade de LH. Remoção de bezerro a curto prazo tem sido demonstrado aumentar a proporção de vacas de corte em anestro pós-parto que começam a ciclar, e tem sido usado juntamente com protocolos de sincronização de estro que têm como base a progestina, para aumentar as taxas de prenhez. Remoção do bezerro de uma vaca em anestro irá aumentar as concentrações circulantes de LH dentro de 24 horas do desmame temporário, e as concentrações de LH irão diminuir após o retorno do bezerro. Há variação na resposta de vacas em anestro ao desmame temporário, e a fonte dessa variação ainda não está esclarecida. Há a hipótese de que utilizando métodos para iniciar uma nova onda folicular combinado com a remoção temporária de bezerro para induzir a ovulação pode ser uma estratégia eficaz para aumentar a proporção de vacas que ovulam em resposta à remoção do bezerro. Os bezerros foram removidos por 48 horas nos dias 2, 4, e 8 da onda folicular, e a resposta ovulatória à remoção do bezerro foi mantida até o dia 8; no entanto, a fase da onda folicular não afetou a resposta à remoção de bezerro (Salfen et al.,

2001). Em resumo, o aumento da frequência da pulsatilidade de LH após a remoção de bezerro provavelmente irá estimular a secreção de estradiol e promover a maturidade fisiológica do folículo dominante em vacas pós-parto.

Administração de PMSG/eCG

Embora a remoção temporária de bezerro forneça um aumento da secreção endógena de gonadotropina (LH), que pode aumentar a maturidade fisiológica do folículo dominante, a administração da gonadotropina coriônica equina (eCG) é um método de fornecer estimulação gonadotrópica exógena para o folículo dominante. O eCG irá se ligar tanto aos receptores de FSH quanto aos de LH na parede do folículo; e o eCG tem meia vida relativamente mais longa. Portanto, a administração de eCG pode ser usada para aumentar a maturidade do folículo e a secreção de estradiol. Como tanto a remoção temporária de bezerro quanto a administração de eCG fornecem estimulação gonadotrópica para o ovário, não é surpreendente que não haja nenhum benefício em combinar a injeção de eCG com a remoção de bezerro (Sa Filho et al., 2009).

Resumo:

Em resumo, a indução da ovulação com o GnRH de folículos ≤ 11 mm resultou na redução das taxas de prenhez e no aumento da mortalidade embrionária tardia/fetal. Essa observação é importante devido ao uso extensivo de GnRH em vários programas de sincronização. A diminuição da fertilidade foi associada à diminuição das concentrações circulantes de estradiol no dia da inseminação, à menor taxa de aumento nas concentrações de progesterona após a inseminação, e à diminuição das concentrações circulantes de progesterona. No entanto, o tamanho do folículo ovulatório não apresentou efeito aparente na fertilidade quando a ovulação ocorreu espontaneamente. Assim, folículos submetidos à ovulação espontânea podem ocorrer em uma ampla diversidade de tamanhos quando eles atingem a maturidade fisiológica. Portanto, a administração de GnRH para induzir a ovulação provavelmente inicia a onda pré-ovulatória de gonadotropina antes que o folículo dominante

tenha adquirido a maturidade fisiológica, e a indução da ovulação com GnRH de folículos fisiologicamente imaturos tem impacto negativo nas taxas de prenhez e de sobrevivência embrionária tardia/fetal. Em novilhas, folículos dominantes pequenos resultam da taxa de crescimento folicular reduzida ou do dia do ciclo estral em que o GnRH foi administrado para sincronizar a nova onda folicular; enquanto que em vacas de corte pós-parto, os folículos dominantes pequenos são resultantes da falha em sincronizar a nova onda folicular no início do protocolo de sincronização. Estratégias para aumentar a maturidade fisiológica do folículo dominante têm focado em aumentar a estimulação gonadotrópica, aumentando a duração do proestro, realizando a remoção temporária de bezerro e a estimulação gonadotrópica exógena (eCG/PMSG).

Referências

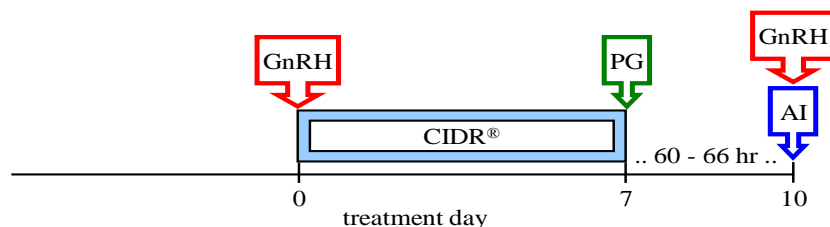
- Atkins JA, Busch DC, Bader JF, Keisler DH, Patterson DJ, Lucy MC, Smith MF (2008) Gonadotropin-releasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: effect of day of the cycle. *J. Anim. Sci.* 86:83-93
- Bello NM, Steibel JP, Pursley JR (2006) Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:3413-3424
- Bridges GA, Mussard ML, Grum DE, Helser LA, Gasser CL, Dauch DM, Pate JL, Day ML (2006) The influence of preovulatory estradiol concentrations on uterine function in beef cattle. *ASAS Proc. Midwest sections.* 207: (Abstr.)
- Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Day ML (2008) Decreasing the interval between GnRH and PGF2 α from 7 to 5 days lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology* 69:843-851
- Burke CR, Mussard DE, Gasser CL, Grum DE, Day ML (2001) Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Anim. Reprod. Sci.* 66: 161-174
- Dias CC, Wechsler FS, Day ML, Vasconcelos JLM (2009) Progesterone concentrations, exogenous equine chorionic gonadotropin, and timing of prostaglandin F2 α treatment affect fertility in postpuberal Nelore heifers. *Theriogenology* 72: 378-385
- Geary TW, Whittier JC, Lefever DG (1998) Effect of calf removal on pregnancy rates of cows synchronized with the Ovsynch or CO-synch protocol. *J. Anim. Sci.* 81(Suppl. 1):278 (Abstr.)
- Gimenes LU, Sa Filho MF, Carvalho NAT, Torres-Junior JRS, Souza AH, Madureira EH, Trinca LA, Sartorelli ES, Carvalho JBP, Mapletoft RJ, Baruselli PS (2008) Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. *Theriogenology* 67: 852-858

- Lamb GC, Stevenson JS, Kesler DJ, Garverick HA, Brown DR, Salfen BE (2001) Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F2 α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 79:2253–2259
- Lopes AS, Butler ST, Gilbert RO, Butler WR (2007) Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.* 99: 34-43
- Meneghetti M, Sa Filho OG, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM (2009) Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72: 179-189
- Mussard ML, Burke CR, Day ML (2003) Ovarian follicle maturity at induced ovulation influences fertility in cattle. *Proceedings Annual Conference of the Society for Theriogenology*. pp. 179-185.
- Mussard ML, Burke CR, Behlke EJ, Gasser CL, Day ML (2007) Influence of premature induction of a luteinizing hormone surge with gonadotropin-releasing hormone on ovulation, luteal function, and fertility in cattle. *J. Anim. Sci.* 85:937-943.
- Peres RFG, Junior IC, Sa Filho OG, Nogueira GP, Vasconcelos JLM (2009) Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows I: Basis for development of protocols. *Theriogenology* 72: 179-189
- Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, Roberts AJ, Geary TW (2005) Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. *PNAS* 102:5268-5273
- Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW (2007) Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J. Anim. Sci.* 85:684-689
- Salfen BE, Kojima FN, Bader JF, Smith MF, Garverick HA (2001) Effect of short-term calf removal at three stages of a follicular wave on fate of a dominant follicle in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.* 79:2688-2697
- Sa Filho OG, Meneghetti M, Peres RFG, Lamb GC, Vasconcelos JLM (2009) Fixed-time artificial insemination with estradiol and progesterone for *Bos indicus* cows II: Strategies and factors affecting fertility. *Theriogenology* 72: 210-218
- Sa Filho OG, Crespilho AM, Santos JEP, Perry GA, Baruselli PS (2010) Ovarian follicle diameter at timed insemination and estrous response influence likelihood of ovulation and pregnancy after estrous synchronization with progesterone or progestin-based protocols in suckled *Bos indicus* cows. *Anim. Reprod. Sci.* 120:23-30
- Sartori R, Fricke PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC (2001) Follicular deviation and acquisition of ovulatory capacity in bovine follicles. *Biol. Reprod.* 65:1403-1409
- Seidel GE (1995) Reproductive biotechnologies for profitable beef production. In *Proc. Beef Improvement Federation*. P 28 Sheridan, WY.
- Vasconcelos JLM, Silcox RW, Lacerda JA, Pursley JR, Wiltbank MC (1997) Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. *Biol. Reprod.* 56(Suppl. 1):140 (Abstr.)
- Vasconcelos JLM, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC (2001) Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. *Theriogenology* 56:307-314
- Waldmann A, Kurykin J, Jaakma U, Kaart T, Aidnik M, Jalakas M, Majas L, Padrik P (2006) The effects of ovarian function on estrus synchronization with PGF in dairy cows. *Theriogenology* 66:1364–1374
- Williams GL (1990) Suckling as a regulator of postpartum rebreeding in cattle: a review. *J. Anim. Sci.* 68:831-852

A

7-day CO-Synch + CIDR®

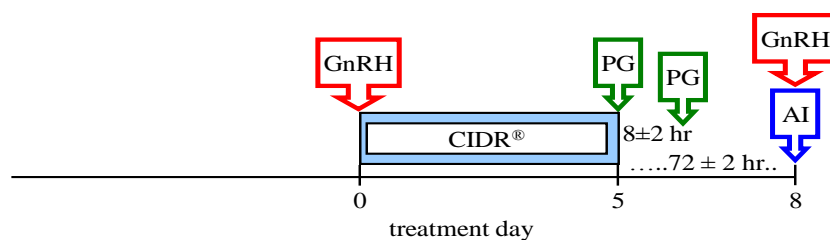
Perform TAI at 60 to 66 hr after PG with GnRH at TAI.



5-day CO-Synch + CIDR®

Perform TAI at 72 ± 2 hr after 1st PG with GnRH at TAI.

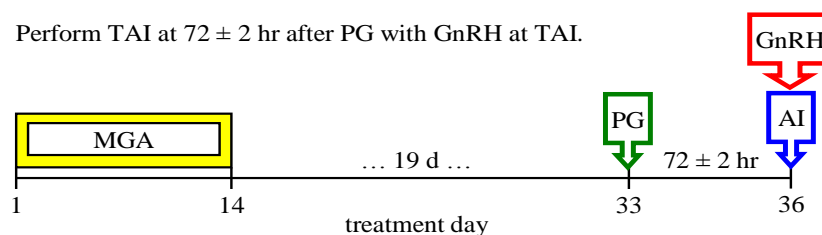
Two injections of PG 8 ± 2 hr apart are required for this protocol.



B

MGA®-PG

Perform TAI at 72 ± 2 hr after PG with GnRH at TAI.



14-day CIDR®-PG

Perform TAI at 66 ± 2 hr after PG with GnRH at TAI.

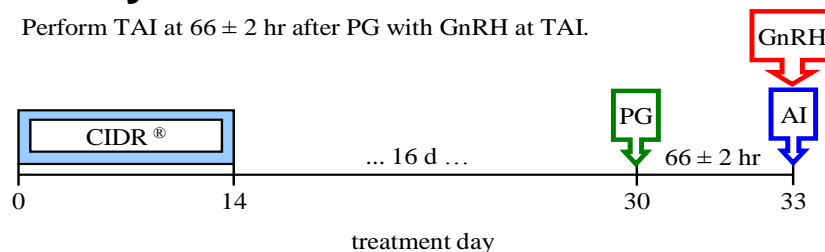
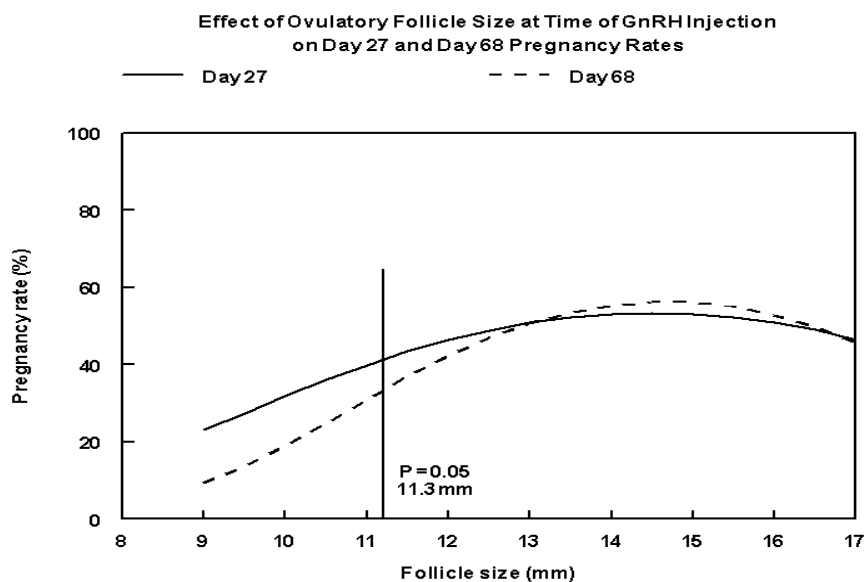


Figura 1. Métodos atuais recomendados para a inseminação artificial em tempo fixo (IATF) em bovinos de corte (A) e em novilhas (B). GnRH – hormônio liberador de gonadotropina; PG – prostaglandina $F_{2\alpha}$; CIDR – dispositivo intravaginal; MGA – acetato de melengestrol (progestina ativa oral)

A



B

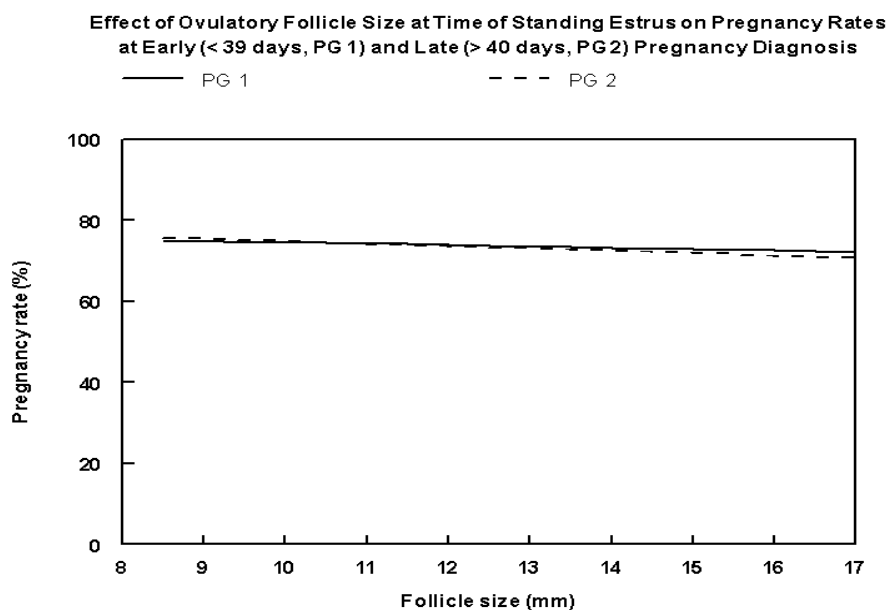


Figura 2. A análise de regressão do efeito do tamanho do folículo ovulatório nas taxas de prenhez. Tamanhos de folículos em que as taxas de prenhez foram reduzidas ($P < 0.05$) abaixo da taxa de prenhez máxima são indicados pelas linhas verticais (A). O tamanho dos folículos que ovularam espontaneamente não teve nenhum efeito sobre as taxas de prenhez subsequentes ou de mortalidade embrionária tardia/fetal (B).

Tabela 1. Tamanho do folículo ovulatório e sucesso reprodutivo (desenvolvimento embrionário, concepção, e prenhez).

Espécies	¹ Tamanho do folículo em que desenvolvimento embrionário/concepção/prenhez reduziram	Variação no tamanho do folículo	Referência
Vacas de corte	≤ 12.0 mm	< 12 mm to > 18 mm	Lamb et al., 2001
Vacas de corte	≤ 11.3 mm	10 mm to 17 mm	Perry et al., 2005
Novilhas de corte	< 10.7 mm >15.7 mm	<10 mm to > 16 mm	Perry et al., 2007
Vacas e novilhas de corte	Linear	7.5 mm to 18.0 mm	Peres et al., 2009
Novilhas de corte	Linear	6 mm to 16 mm	Dias et al., 2009
Vacas de corte	Linear	< 9 mm to > 17 mm	Sa Filho et al., 2009
Vacas de corte	Linear	< 9 mm to > 16 mm	Meneghetti et al., 2009
Vacas de leite	Quadrática	10 mm to 23 mm	Bello et al., 2006
Vacas de leite	15 mm and 14.5 mm	8 mm to 17 mm	Lopes et al., 2007

¹Tamanho do folículo em que o sucesso reprodutivo diminuiu significativamente. Linear e quadrática refere à linha significativa, em que os dados se encaixaram. Linear: taxa de prenhez aumentou quando o tamanho do folículo ovulatório também aumentou. Quadrática: com o aumento do tamanho do folículo, a taxa de prenhez também aumentou até um certo diâmetro (aproximadamente 15.0 mm), e depois diminuiu com o subsequente aumento no tamanho do folículo.

Tabela 2. Média do diâmetro (mm) do folículo maior (\pm SEM) no momento do GnRH-1 e GnRH-2, número (%) de novilhas ovulando em resposta ao GnRH-1 e GnRH-2, sofrendo luteólise antes da prostaglandina F_{2α} (PGF), e em estro entre GnRH-1 e PGF.

Tratamento Grupo ^a	GnRH 1 ^b		GnRH 2 ^c		Luteólise antes da PGF	Proporção em estro entre GnRH-1 e PGF
	Diâmetro Folicular	Ovulação	Diâmetro Folicular	Ovulação		
d 2	5.3 ^d \pm 0.4	0/14 ^g	12.4 ^g \pm 0.7	13/14 ^g	0/14 ^d	0/14 ^d
d 5	9.4 ^e \pm 0.5	12/13 ^h	11.4 ^g \pm 0.8	12/13 ^g	0/13 ^d	0/13 ^d
d10	11.8 ^f \pm 0.5	4/13 ^{gi}	12.3 ^g \pm 0.8	12/13 ^g	2/13 ^d	1/13 ^d
d 15	10.2 ^{ef} \pm 0.5	9/13 ^{hi}	7.2 ^h \pm 0.8	2/13 ^h	12/13 ^e	6/13 ^e
d 18	10.7 ^{ef} \pm 0.5	2/10 ^g	9.6 ^{gh} \pm 0.9	2/10 ^h	10/10 ^e	7/10 ^e

^aTratamento/gupos foram baseados no dia do ciclo estral no início (GnRH-1) do protocolo CO-Synch.

^bGnRH-1- Injeção de GnRH no primeiro dia do protocolo CO-Synch (d -9).

^cGnRH-2- Injeção de GnRH e IATF (d 0) no protocolo CO-Synch.

As médias ou proporções com letras diferentes na mesma coluna são estatisticamente diferentes (^{def}P < 0.01, ^{ghi}P < 0.05).

Experimento	Ovulação ao GnRH-1	n	Diâmetro do folículo (mm) no GnRH-1	Variação do diâmetro do folículo (mm) no GnRH-1	Diâmetro do folículo (mm) no GnRH-2	Variação do diâmetro do folículo (mm) no GnRH-2	Ovulação ao GnRH-2	Luteólise antes da PGF
1	Sim	27	10.61 ^a	1.89 ^a	10.06	12.78	17 (63)	11 (41)
	Não	35	8.2 ^b	9.55 ^b	11.1	7.84	24 (69)	14 (39)
2	Sim	18	11.0 ^a	2.6 ^a	10.8	17.6	11 (61)	8 (44)
	Não	19	9.0 ^b	8.4 ^b	11.8	9.0	8 (42)	7 (37)

Tabela 3. Efeito da resposta ovulatória ao GnRH-1 do protocolo CO-Synch, média do diâmetro folicular (mm) no momento do GnRH-1 e GnRH-2, variação no diâmetro do folículo maior no momento do GnRH-1 e GnRH-2, número (%) de animais ovulando em resposta ao GnRH-2, sofrendo luteólise antes da PGF.

Médias com letras diferentes no mesmo experimento e entre colunas são estatisticamente diferentes (^{ab}P<0.01, ^{cd}P<0.05).