

**Investigação do Uso de Benzoato de Estradiol, Associado a Suplementação com Gestágeno e Prostaglandina sobre a Incidência e Momento de Início dos Cios em Vacas de Corte**



**República Federativa do Brasil**

*Luiz Inácio Lula da Silva*  
Presidente

**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

*Roberto Rodrigues*  
Ministro

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa**

**Conselho de Administração**

*José Amauri Dimázio*  
Presidente

*Clayton Campanhola*  
Vice-Presidente

*Alexandre Kalil Pires*  
*Dietrich Gerhard Quast*  
*Sérgio Fausto*  
*Urbano Campos Ribeiral*  
Membros

**Diretoria Executiva da Embrapa**

*Clayton Campanhola*  
Diretor-Presidente

*Gustavo Kauark Chianca*  
*Herbert Cavalcante de Lima*  
*Mariza Marilena T. Luz Barbosa*  
Diretores-Executivos

**Embrapa Pecuária Sul**

*Eduardo Salomoni*  
Chefe-Geral

*Laudo Orestes Antunes Del Duca*  
Chefe-Adjunto de Administração

*Roberto Silveira Collares*  
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

**Embrapa**

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro de Pesquisa de Pecuária dos Campos Sulbrasilios  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ISSN 0103-3743  
Setembro, 2003

## **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 28**

**Investigação do Uso de Benzoato  
de Estradiol, Associado a  
Suplementação com Gestágeno e  
Prostaglandina sobre a Incidência e  
Momento de Início dos Cios em  
Vacas de Corte**

Rogério Ferreira  
José Carlos Ferrugem Moraes  
Carlos Miguel Jaime

Bagé, RS  
2003

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pecuária Sul  
BR 153, km 595 - Caixa Postal 242  
96401-970 - Bagé, RS  
Fone/Fax: (0XX53) 242-8499  
http://www.cppsul.embrapa.br  
sac@cppsul.embrapa.br

#### Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Roberto Silveira Collares*  
Secretário-Executivo: *Nelson Manzoní de Oliveira*  
Membros: *Klecius Ellera Gomes*  
*Sérgio Silveira Gonzaga*  
*Carlos Miguel Jaume Eggleton*  
*Ana Mirtes de Sousa Trindade*

Supervisor editorial: *Sergio Renan Silva Alves*  
Normalização bibliográfica: *Maria Bartira Nunes Costa Taborda*  
Tratamento de ilustrações: *Roberto Cimirro Alves*  
Editoração eletrônica: *Roberto Cimirro Alves*

#### 1ª edição

1ª impressão (2003): 500 exemplares

#### Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

#### F383i Ferreira, Rogério.

Investigação do uso de benzoato de estradiol, associado a suplementação com gestágeno e prostaglandina sobre a incidência e momento de início dosaios em vacas de corte / Rogério Ferreira, J.C.F. Moraes e C. M. Jaume. - Bagé: Embrapa CPPSul, 2003.  
22p. (Embrapa CPPSul, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 28)

ISSN: 0103 = 3743

1. Bovinos de corte. 2. Bovinos - cio. 3. Benzoato de estradiol. I. Ferreira, R. II. Moraes, J. C. F. III. Jaume, C. M. IV. Título. V. Série.

CDD: 636.208926

© Embrapa, 2003

## Sumário

Resumo.....	5
Abstract.....	7
Introdução.....	9
Material e Métodos.....	11
Experimento 1.....	11
Experimento 2.....	12
Experimento 3.....	13
Resultados e Discussão.....	13
Conclusões.....	17
Referências Bibliográficas.....	20

# Investigação do Uso de Benzoato de Estradiol, Associado a Suplementação com Gestágeno e Prostaglandina sobre a Incidência e Momento de Início dos Cios em Vacas de Corte

Rogério Ferreira<sup>1</sup>

José Carlos Ferrugem Moraes<sup>2</sup>

Carlos Miguel Jaume<sup>3</sup>

## Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do uso de prostaglandina (PG) e de benzoato de estradiol (ODB) em animais tratados com gestágeno, no momento de início e na taxa de manifestação de cio em vacas secas, com cria ao pé e novilhas de corte. No *Experimento 1*, 53 vacas Hereford secas ciclando receberam pessários vaginais contendo 250 mg de acetato de medroxi-progesterona (MAP) e no momento da colocação uma injeção de 5 mg de ODB i.m. em veículo oleoso. Os animais foram distribuídos ao acaso em 3 grupos: MAP, MAP+PG e MAP+ODB. As vacas dos grupos MAP+PG e MAP+ODB receberam 250  $\mu$ g de cloprostenol na submucosa vulvar, e as do grupo MAP+ODB receberam 0,5 mg de ODB i.m. 24 horas após a remoção dos pessários. Não houve diferença no tempo para manifestação de cio nos diferentes tratamentos, embora os animais que receberam a segunda dose de ODB tenham manifestado maior frequência de cio de 36 a 60 horas após a remoção dos pessários. No *Experimento 2*, 340 vacas cruzas com cria entre 60-81 dias pós-parto, oriundas de duas propriedades receberam MAP por 10

<sup>1</sup>Acadêmico Faculdade de Veterinária, UFPel, Pelotas - RS

<sup>2</sup>Méd. Vet., Dr., Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul, Caixa Postal 242, Bagé-RS, CEP 96401-970, (0XX53) 242-8499, ferrugem@cppsul.embrapa.br

<sup>3</sup>Eng. Agr., PhD., Pesquisador da Embrapa Pecuária Sul, Caixa Postal 242, Bagé-RS, CEP 96401-970, (0XX53) 242-8499, jaumec@cppsul.embrapa.br

dias e 5 mg de ODB i.m. na colocação do pessário. Cento e trinta e sete vacas receberam 0,5 mg ODB i.m. 24 horas após a remoção dos pessários (grupo MAP+ODB) e as demais sem receber tratamento após a retirada do pessário (grupo MAP). As vacas do grupo MAP+ODB apresentaram maior frequência de manifestação de cio (45%) do que as do grupo MAP (22%), bem como um menor período de tempo para início do cio, respectivamente de  $50 \pm 2,26$  e  $67 \pm 2,86$  horas. No *Experimento 3*, 100 novilhas cruzas com idade em torno de 14 meses foram distribuídas ao acaso para receber (grupo MAP+ODB) ou não (grupo MAP) 0,5 mg de ODB i.m. 24 horas após a suplementação por 7 dias de 250 mg de MAP e 5 mg de ODB i.m. na colocação dos pessários. As novilhas do grupo MAP+ODB apresentaram maior taxa de manifestação de cio (86%) do que as do grupo MAP (53%), além de maior incidência de cios entre 36 e 60 horas, respectivamente de 76% e 31%. O intervalo entre a remoção do pessário início do cio e taxa de retorno não foram afetados pelos tratamentos. Com base nos resultados é possível concluir que o uso de 0,5 mg de ODB após a suplementação com MAP aumenta o número de fêmeas em cio entre as 36 e 60 horas, possivelmente melhorando a eficácia do emprego da inseminação com tempo fixo e facilitando a detecção de cio em vacas com cria. Em novilhas de 14 meses de idade aumenta a proporção de animais em cio e o número de animais gestantes.

**Palavras-chave:** manifestação e sincronização de cios; benzoato de estradiol; acetato de medroxi-progesterona; bovinos.

## The effects of estradiol benzoate and prostaglandin in progestagen treated animals on the incidence and time interval to estrus behaviour in beef cattle

### Abstract

The objective of the present work was to determine the effects of the use of prostaglandin (PG) and estradiol benzoate (ODB) in animals treated with a progestagen on the incidence and time of manifestation of estrus in heifers and in dry and suckling beef cows. In *Experiment 1*, 53 dry cycling Hereford cows received an intravaginal pessary with 250 mg of medroxy-progesterone acetate (MAP) for 10 days and an injection (i.m.) of 5mg ODB at the time of pessary insertion. The animals were distributed at random into 3 groups: MAP, MAP+PG and MAP+ODB. Cows in groups MAP+PG and MAP+ODB received an injection of 250  $\mu$ g of cloprostenol in the vaginal sub-mucous on the day of pessary removal, and those in the MAP+ODB group an additional injection of 0.5 mg of ODB (i.m.) 24h after pessary removal. No significant difference was detected in the time to detection of estrus between the treatments, although animals in the MAP+ODB group presented a greater incidence of estrus between 36 and 60h after pessary removal. In *Experiment 2*, 340 crossbred (British x Zebu) suckled cows between 60-81 days post-partum from two farms received an intravaginal pessary with 250mg of medroxy-progesterone acetate (MAP) for 10 days and an injection of 5mg ODB (i.m.) at the time of pessary insertion. One hundred and thirty seven cows received an injection of 0.5 mg ODB (i.m.) 24h after pessary removal (MAP+ODB group) the rest received no further treatment after pessary removal (MAP group). Cows in the MAP+ODB group presented a greater incidence of estrous behaviour (45%) than those in the MAP group (22%) as well as a reduced time interval between pessary removal and estrus detection  $50 \pm 2,26$  and  $67 \pm 2,86$  hours, respectively. In *Experiment 3*, 100 crossbred (Hereford x A. Angus) 14 months

old heifers were distributed at random to receive (MAP+ ODB group) or not receive (MAP group) an injection of 0.5 mg ODB (i.m.) 24h after the removal of a pessary containing 250mg MAP inserted during 7 days and an injection of 5mg ODB (i.m.) at the time of pessary insertion. Heifers in the MAP+ ODB group presented a greater incidence of estrus detection (86%) than those of the MAP group (53%), and a greater incidence of manifestation of estrus between 36 and 60h after pessary removal, 76 % and 31%, respectively. The time interval between pessary removal and detection of estrus and the return to estrus after AI were not affected by the treatments. The results indicate that the injection of 0.5mg ODB 24 h after pessary removal increases the manifestation of estrus between 36 and 60h after pessary removal in suckled cows, which would facilitate the use of fixed time insemination without detection of estrus. It also increases estrous frequency and the number of pregnant 14 month's old heifers.

**Index terms:** estrus behavior; synchronization of estrus; estradiol benzoate; medroxy-progesterone acetate; cattle.

## Introdução

O uso de progesterona natural ( $P_4$ ) na sincronização de cios nos bovinos data dos anos 50 e o de seus análogos sintéticos dos anos 60, com o emprego do acetato de medroxi-progesterona (MAP) e acetato de melengestrol (MGA), durante um período de tempo aproximado a um ciclo estral (Gordon, 1996). O uso dos progestágenos está baseado na redução espontânea do corpo lúteo durante o tratamento, resultando em um grau de sincronização excelente, porém de baixa fertilidade. A baixa taxa de concepção após destes tratamentos foi inicialmente atribuída ao longo período de tratamento com progestágenos, em função da possibilidade de promover alterações no muco cervical, prejudicando a passagem dos espermatozóides pela cérvix (Roche et al., 1999). A partir dos anos 70 com o advento da prostaglandina F2-alfa ( $PGF_{2\alpha}$ ) e seus análogos sintéticos os tratamentos com progesterona/progestágenos foram reduzidos em duração (Gordon, 1996). No entanto, a simples diminuição do período de tratamento com  $P_4$  não foi suficiente para eliminar os problemas de fertilidade, pois os produtos comerciais à base de progestágenos não são capazes de controlar completamente o padrão pulsátil de hormônio luteinizante (LH), permitindo o crescimento de folículos maiores que 10mm, que persistem por mais alguns dias, induzindo a maturação prematura do ovócito. Estes folículos "envelhecidos" vêm a ovular após a remoção do tratamento com gestágeno, resultando na ovulação de um ovócito de baixa fertilidade (Roche et al., 1999). Mais recentemente, com o conhecimento do modelo de desenvolvimento folicular em ondas e dos diversos fatores que interferem na regulação da função ovariana, é possível não só controlar a duração da fase lútea, mas também interferir na dinâmica folicular através do uso de estrógenos, gonadotrofinas e hormônio liberador das gonadotrofinas (GnRH).

Para a obtenção de eficiente sincronização de cios, com níveis adequados de fertilidade, é importante induzir à atresia todos os folículos grandes presentes nos ovários no início de um tratamento com progestágenos, resultando no recrutamento de uma nova onda de crescimento folicular. O estradiol tem sido usado com esta finalidade, causando a diminuição de folículos FSH dependentes e, na presença de progesterona, a atresia de folículos LH dependentes (Driancourt, 2001). O tratamento de estradiol 17 $\alpha$  associado a progesterona/progestágeno resulta na supressão do folículo dominante e emergência da nova onda entre 3 e 4 dias (Bo et al., 1995; Martinez et al.,

2000).

O uso da inseminação artificial em tempo fixo (IATF), pela desnecessidade de detecção de cio, pode proporcionar aumento da utilização da inseminação artificial (IA), sendo uma alternativa útil de manejo pela possibilidade de inseminação de todos os animais tratados no mesmo dia (Baruseli & Marques, 2002). No entanto, para sua consecução é importante que os protocolos desenhados com essa finalidade proporcionem índices aceitáveis de fertilidade, que notadamente dependem do intervalo entre a IA e a ovulação e das condições para o oócito ser fertilizado (Driancourt, 2001).

O uso de GnRH associado com prostaglandina ou gestágeno tem sido relatado como indutor de ovulação em programas de sincronização de estro e ovulação para o uso em IATF. O benzoato de estradiol (ODB), na fase folicular (ausência de P<sub>4</sub>) causa um feed-back positivo na liberação de LH, podendo ser utilizado na sincronização da ovulação de animais pré-tratados com gestágeno (Martinez et al., 2000). Martinez et al. (2001) não verificaram diferença na manifestação de estro e na taxa de prenhez de vacas lactando e de novilhas púberes que receberam ODB ou GnRH após tratamento com MGA por 7 dias e IATF. Estes mesmos autores verificaram apenas um menor tempo para manifestação de cio após o final do tratamento e uma menor variação deste tempo no grupo ODB. Em novilhas leiteiras tratadas com dispositivo intra-vaginal para liberação de P<sub>4</sub> durante 12 dias, foi observada uma maior taxa de manifestação de cio e concepção, naquelas que receberam ODB 24h após sua remoção (Hanlon et al., 1996).

O uso de ODB 24 horas após suplementação com gestágeno em novilhas aumenta a frequência de manifestação de cio, no entanto, pode promover menores taxas de concepção em algumas condições peculiares (Moraes, 2002). Entretanto seu emprego na dosagem de 0,5 mg após a suplementação com MAP em novilhas de 14 meses de idade determina um aumento na manifestação de cio com taxa normal de concepção, indicando a utilidade do uso de estrógenos nesta categoria animal (Vogg et al., 1999). Além disso, Burke et al. (2001) utilizando ODB 24 horas após a suplementação com gestágeno, induziram a puberdade (12/16) de novilhas, caracterizada pela manifestação de cio, ovulação e a subsequente ocorrência de ciclos normais. A capacidade do ODB, administrado na fase folicular, em induzir a ovulação é influenciada pela condição reprodutiva (ciclicidade) e o estágio de maturação do folículo dominante no momento da aplicação em vacas em anestro, porém em novilhas esta diferença não foi evidenciada (Burke et al., 2001). O possível

efeito deletério na fertilidade foi demonstrado por Lane et al. (2001) que apenas observaram diminuição nas taxas de prenhez de novilhas tratadas com ODB na emergência da fase folicular e não naquelas tratadas na fase de dominância.

O sucesso de um programa de sincronização de cios com indução de ovulação depende do uso de um fármaco que promova a sincronização da nova onda de crescimento folicular com ovulações entre 30-60 horas após a suspensão da suplementação com progesterona/gestágeno. Os resultados obtidos pelo uso do ODB associado ao MAP são semelhantes aos constatados na sua associação com progesterona para vacas em todas as condições reprodutivas? A hipótese do presente estudo foi de que o uso do ODB após a suplementação com MAP aumentaria a incidência e a concentração de estros, o que justificaria o seu uso em IATF. Além disso, o uso do ODB poderia favorecer a manifestação de cio em categorias em que a detecção do estro é mais difícil, como vacas com cria ao pé e novilhas de 14 meses.

O objetivo foi o de avaliar a influência do ODB aplicado após a retirada do pessário, no momento do início do estro (*Experimentos 1, 2 e 3*) e na incidência de manifestação de cio em vacas secas (*Experimento 1*), em vacas com cria (*Experimento 2*) e novilhas de 14 meses (*Experimento 3*).

## Material e Métodos

**Experimento 1:** Determinação do início dos sinais de manifestação de cio em vacas Hereford após sincronização com progestágeno, prostaglandina e benzoato de estradiol

Foram utilizadas 42 vacas Hereford secas com condição corporal entre 3 e 5 (escala de 1, magra a 5, gorda; Cachapuz, 1997), de propriedade da EMBRAPA Pecuária Sul. Todas as vacas, em estágio aleatório do ciclo estral, receberam um pessário intra-vaginal contendo 250 mg de MAP durante 10 dias. No momento da colocação foi aplicada uma injeção intramuscular de 5 mg de ODB em veículo oleoso. Os animais foram divididos ao acaso em 3 grupos, denominados: MAP, MAP+PG e MAP+ODB. No momento da retirada dos pessários as vacas dos grupos MAP+PG e MAP+ODB receberam 250 µg de cloprostenol na submucosa vulvar. Vinte e quatro horas após a remoção dos pessários os animais do grupo MAP+ODB receberam uma injeção intramuscular de 0,5 mg de ODB.

Os cios foram detectados até 96 horas após a retirada dos pessários por observação visual três vezes ao dia (às 6:00, 12:00 e 18:00 horas), durante aproximadamente uma hora. As vacas em cio no período das 6:00 horas foram inseminadas às 15:00 horas, enquanto as detectadas às 12:00 e 18:00 horas foram inseminadas às 8:00 horas do dia seguinte. Os dados de frequência de cio e prenhez não foram alvo de análise em função do número de animais, entretanto, os dados foram anotados e tabulados. O diagnóstico de gestação foi realizado 41 dias após a remoção dos pessários por exame ultra-sonográfico utilizando uma sonda transretal de 5 MHz.

O tempo para manifestação de cio (variável dependente) após a remoção dos pessários em relação ao fator grupo foi analisado por análise de variância. A frequência de distribuição de cio nos diferentes grupos foi comparada pelo teste de Kruskal-Wallis.

**Experimento 2:** Uso do benzoato de estradiol em programas de sincronização de cios em vacas com cria após a suplementação com gestágeno à base de acetato de medroxi-progesterona

O trabalho foi realizado em duas propriedades, empregando 340 vacas de corte cruzas (Raças Britânicas x Zebu) com cria ao pé. As vacas no início do tratamento tinham entre 60 e 81 dias pós-parto e apresentavam condição corporal entre 1 e 5. Todas receberam um pessário intra-vaginal contendo 250 mg de MAP durante 10 dias e uma injeção intramuscular de 5 mg de ODB em veículo oleoso no momento da colocação. Todas as vacas, no momento da retirada dos pessários, tiveram seus terneiros desmamados definitivamente. Cento e trinta e sete vacas receberam 0,5 mg de ODB i.m. 24h após a retirada do pessário (grupo MAP + ODB), enquanto as restantes (grupo MAP) receberam apenas o tratamento base.

A detecção de cio foi realizada a cada 12 horas até 120 horas (5 dias) após a remoção dos pessários, sendo efetuada pela mesma pessoa nas duas propriedades. A inseminação artificial foi realizada 12 horas após a detecção dos animais em cio.

A frequência de animais em cio em cada tratamento foi analisada pelo teste do qui-quadrado, o modo como estes se comportaram frente às diferentes propriedades e os escores de condição corporal foram analisados pelo qui-quadrado de heterogeneidade. A variável dependente tempo para manifestação do cio após a retirada dos pessários foi analisado por análise de variância considerando os fatores tratamento, propriedade e condição corporal. Embora a detecção de cio tenha sido efetuada a cada 12 horas, os dados de tempo de

manifestação de cio foram analisados em intervalos de 24 horas.

**Experimento 3:** Sincronização de cios em novilhas de 14 meses utilizando o benzoato de estradiol após o uso de gestágeno à base de acetato de medroxi-progesterona

Foram utilizadas 100 novilhas cruzas (predominantemente Hereford e Angus) com idade de aproximadamente 14 meses. Estas novilhas foram consideradas como pré-pubescentes em função de que apenas 5 (2,3%) de 213, manifestaram cio em vinte dias. As novilhas incluídas neste ensaio receberam um pessário intra-vaginal contendo 250 mg de MAP durante sete dias e uma injeção intramuscular de 5 mg de ODB no momento da colocação. Estes animais foram divididos ao acaso em dois tratamentos, MAP e MAP + ODB, sendo que as novilhas do segundo grupo receberam uma injeção intramuscular de 0,5 mg de ODB 24 horas após a remoção dos pessários.

A manifestação de cios foi observada a cada 12 horas por um período superior a 30 dias, desta forma possibilitando o controle de retorno de todas as novilhas que manifestaram cio dentro de 120 horas (5 dias) após a remoção dos pessários. As inseminações foram efetivadas após 12 horas da detecção de cio.

Foi utilizado o teste do qui-quadrado para comparar as taxas de manifestação de cio, incidência de cio entre 36 e 60 horas, retorno e ciclo irregular curto entre os dois grupos. A análise do tempo de manifestação de cio após a remoção dos pessários de acordo com os distintos tratamentos foi feita por análise de variância de um fator. A comparação das distribuições de incidência de cio nos diferentes tempos foi feita através do teste de Kolmogorov-Smirnov. Nos três experimentos os procedimentos estatísticos não paramétricos seguiram as recomendações de Siegel (1975) e foram efetivados empregando o pacote estatístico PEPI ([www.usd-inc.com/pepi.html](http://www.usd-inc.com/pepi.html)) e os paramétricos pelo pacote NCSS (1996), sendo que o nível de significância adotado foi o de 5%. As análises efetivadas por qui-quadrado, considerando o tamanho das amostras sempre incluíram a correção de Yates.

## Resultados e Discussão

A investigação da distribuição do início dos sinais de manifestação de cio incluiu vacas sob distintas condições reprodutivas, ou seja, vacas adultas sem cria ao pé, adultas com cria ao pé e novilhas jovens submetidas à

sincronização/indução de cios pela primeira vez.

No Experimento 1, com vacas adultas sem cria ao pé, apenas 35% das vacas apresentaram estro no período de controle no grupo MAP, em contraste com os grupos MAP+PG e MAP+ODB em que foram verificados 100% de estros. Estes resultados seriam esperados para as vacas tratadas com PG, considerando o seu efeito luteolítico, por outro lado, estes resultados reiteram o fato de que o tratamento com MAP e 5 mg ODB i.m. na colocação do pessário não tem efeito luteolítico.

Não foi detectada diferença estatística no momento de início do cio nos diferentes tratamentos. Entretanto, na Figura 1 pode ser constatada uma tendência distinta nas curvas de manifestação de cio entre os três tratamentos (Kruskal-Wallis = 5,14; P = 0,077). A distribuição mais ampla no grupo tratado com PG pode estar relacionada ao mecanismo de ação das prostaglandinas, bem como a maior concentração em torno das 48 horas nas vacas que receberam a injeção de 0,5 mg de ODB 24 horas após a suspensão do tratamento com o gestágeno a ação do benzoato de estradiol. A inexistência de diferença no tempo de manifestação de cios entre os animais que receberam ou não ODB 24 horas após a aplicação de PG está de acordo com os resultados obtidos por Evans et al. (2003), que também, não verificaram diferença no tempo para manifestação de cio naqueles animais que receberam ODB 24 horas após aplicação de PG na fase de dominância folicular.

O tempo médio para a manifestação de cio após a remoção dos pessários oscilou entre 43 e 55 horas, não havendo diferença estatística entre os grupos (P > 0,05). Os dados de frequência de cio, manifestação de cio entre 36 e 60 horas, concepção, e taxa de prenhez estão apresentados na Tabela 1. Apesar do baixo número de animais incluídos em cada grupo foi detectada uma maior incidência de cio entre 36 e 60 horas após a remoção dos pessários, naqueles animais que receberam uma injeção de ODB 24h após a retirada do pessário (grupo MAP+ODB), quando comparados com aqueles que não receberam ODB (conjunto dos grupos MAP e MAP+PG) (13/14 vs. 14/28;  $\chi^2 = 5,717$ ; 1GL; P = 0,017).

No experimento 2, vinte e seis vacas perderam os pessários e foram excluídas da análise. A investigação da associação do benzoato de estradiol em programas de sincronização de cios em vacas com cria após a suplementação com gestágeno à base de acetato de medroxi-progesterona revelou uma taxa de manifestação de cio semelhante nas duas propriedades ( $\chi^2_{het.} = 0,81$ ; 1GL; P = 0,227) e nas diferentes condições corporais ( $\chi^2_{het.} = 8,12$ ; 4GL;

P = 0,104), podendo ser analisada de maneira combinada. Houve uma maior manifestação de cio no grupo MAP+ODB comparado com o grupo MAP (45 vs. 20%;  $\chi^2 = 21,82$ ; 1GL; P = 0,0002; Tabela 2).

O tempo médio para manifestação de cio após a remoção dos pessários foi de 50,0 ± 22,27 horas no grupo MAP+ODB inferior ao grupo MAP de 67,2 ± 82,86 horas (F = 20,65; 1GL; P < 0,001). Na Figura 2 é apresentada a distribuição de frequência de cios nos dois tratamentos, evidenciando a maior concentração dos estros nas vacas tratadas com o ODB.

No Experimento 3 em que foi efetivada a sincronização de cios em novilhas de 14 meses utilizando o benzoato de estradiol após o uso de gestágeno à base de acetato de medroxi-progesterona, até 120 horas após a remoção dos pessários foram observadas em cio 69 (69%) das 100 novilhas submetidas aos tratamentos testados. O efeito do tratamento foi altamente significativo ( $\chi^2 = 11,06$ ; 1GL; P = 0,001) na taxa de manifestação de cio. Das novilhas que receberam ODB 24 horas após a remoção dos pessários, 42 (86%) manifestaram cio, enquanto entre as que não receberam apenas 27 (53%) foram detectadas em cio (Tabela 3).

O tempo para manifestação de cio foi 45,00 ± 3,78 e 43,71 ± 2,85 horas, respectivamente para os grupos MAP e MAP+ODB, não tendo sido encontrada diferença estatística (F = 0,09; P > 0,05). Também não houve diferença na incidência de cio nos diferentes tempos entre os dois tratamentos (Kolmogorov-Smirnov; D = 0,29; P > 0,05), sendo a moda de 36 horas para ambos tratamentos (Figura 3).

A taxa de retorno foi similar nos grupos MAP e MAP+ODB, respectivamente de 46 e 45% ( $\chi^2 = 0,06$ ; 1GL; P = 0,81). A frequência de animais que apresentaram retorno ao cio com ciclo curto foi semelhante entre os grupos, sendo 7/13 e 3/19, respectivamente para MAP e MAP+ODB ( $\chi^2 = 3,22$ ; 1GL; P = 0,07).

O uso do ODB 24 horas após a remoção dos pessários aumentou a incidência de cio em vacas com cria e novilhas de 14 meses. Resultados semelhantes foram obtidos por Vogg et al. (1999). O incremento na incidência de cios em novilhas de 14 meses de idade não foi acompanhado por um aumento nas taxas de retorno. Nesta categoria animal o tratamento com ODB 24h após a retirada do pessário favorece a taxa de prenhez pela indução de maior número de animais manifestando cio. Burke et al. (2001) observaram uma maior taxa de cio e ovulação em novilhas pré-púberes, porém, não em novilhas já

ciclando, enfatizando a influência da condição reprodutiva na resposta ao ODB. De um modo geral, um menor tempo para manifestação de cio foi verificado com a suplementação de ODB em vacas com cria, porém este resultado difere do detectado em novilhas de 14 meses e vacas ciclando. Estes resultados podem estar conectados a peculiaridades dos rebanhos incluídos no presente estudo quanto ao momento de ovulação ou mesmo a precisão com que foram colhidas as informações em pequenos grupos de animais. Entretanto, cabe salientar que o início dos sinais de cio nas vacas com cria ao pé foram semelhantes nas duas propriedades incluídas neste estudo com uma mesma metodologia de coleta de dados. Os resultados díspares nas novilhas podem estar relacionados efetivamente a dificuldade de identificação de cios e peculiaridade de resposta aos tratamentos nesta categoria animal (Burke et al., 2001). É possível que em novilhas pré-púberes a quantidade de estradiol secretada pelo folículo ovulatório em grande parte dos animais, seja marginal para a manifestação de cio e que o complemento exógeno seja necessário neste tipo de animal para uma adequada manifestação do comportamento de estro.

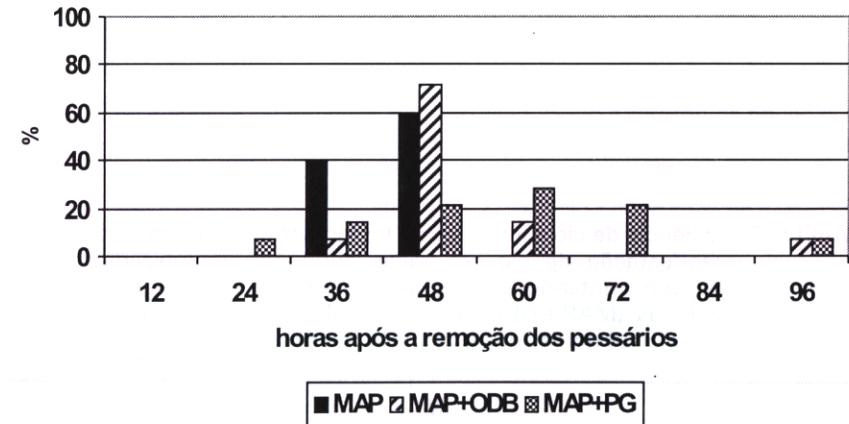
As melhores taxas de concepção são observadas quando a IA ocorre 13 a 18 horas antes da ovulação (Robinson & Shelton, 1991). Os melhores índices de concepção são verificados quando as vacas são inseminadas entre as 10 últimas horas do cio e as 10 primeiras horas após o final deste período, o que corresponde a um período de aproximadamente 8 a 28 horas após o início do cio (Mies Filho, 1987). Baseado nestes dados, quando a IATF é utilizada 60 horas após a remoção do pessário, as fêmeas que manifestam cio entre 36 e 60 horas são aquelas que apresentam maior probabilidade de concepção. O uso do ODB 24 horas após um período de suplementação com MAP aumentou a frequência de fêmeas que manifestaram cio entre 36 e 60 horas (*Experimentos 1 e 3*). Esta análise não foi efetuada no *Experimento 2*, pelo fato de que os dados de tempo de manifestação de cio foram obtidos em intervalos de 24 horas. Entretanto, pode ser evidenciado que o uso do ODB aumentou a frequência de animais detectados em cio nas 48 horas, sendo de 39% e 6% respectivamente para os grupos MAP + ODB e MAP ( $\chi^2 = 50,18; 1GL; P < 0,001$ ). De um modo geral a indução da ovulação com ODB aumentou a concentração de cios em horários desejáveis para a IA nas 60 horas, sendo

provavelmente uma ferramenta útil no emprego da IATF.

## Conclusões

O tratamento com 0,5mg ODB 24h após a remoção do pessário contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona aumentou a taxa de manifestação de cio e a incidência de cios entre 36 e 60h após a retirada do pessário. Os resultados evidenciam que este tratamento seria indicado para uso associado com inseminação artificial em tempo fixo.

Em novilhas de 14 meses de idade o tratamento com 0,5mg de ODB 24h após a retirada dos pessários aumentou a percentagem de animais manifestando cio



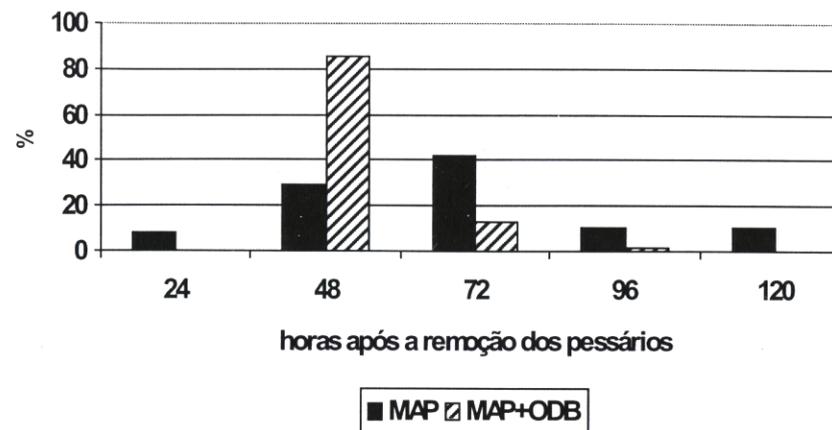
**Figura 1.** Frequência de vacas em cio após sincronização com pessários com 250mg acetato de medroxi-progesterona (MAP), com MAP e uma injeção de 250g cloprostenol na submucosa vulvar na retirada do pessário (MAP+PG), ou associado a uma injeção intramuscular de 0,5mg de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção dos pessários (MAP+ODB).

**TABELA 1.** Frequência de manifestação de cio, concepção e prenhez em vacas adultas secas após sincronização com pessários com 250mg acetato de medroxi-progesterona (MAP), com MAP e uma injeção de 250g de cloprostenol na submucosa vulvar na retirada do pessário (MAP+PG) ou associado a uma injeção intramuscular de 0,5mg de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção dos pessários (MAP+ODB).

	MAP	MAP+ODB	MAP+PG
Cio	36 (5/14)	100 (14/14)	100 (14/14)
Cio 36 - 60 h	36 (5/14)	93 (13/14)	64 (9/14)
Intervalo remoção cio	43,20±6,83	51,86±4,08	55,29±4,08
Concepção	40 (2/5)	36 (5/14)	43 (6/14)
Prenhez	14 (2/14)	36 (5/14)	43 (6/14)

**TABELA 2.** Incidência de cio e intervalo de tempo entre a retirada do pessário e a manifestação de cio em vacas com cria sincronizadas com um pessário contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona e injetadas (MAP+ODB) ou não (MAP) com 0,5mg de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção dos pessários.

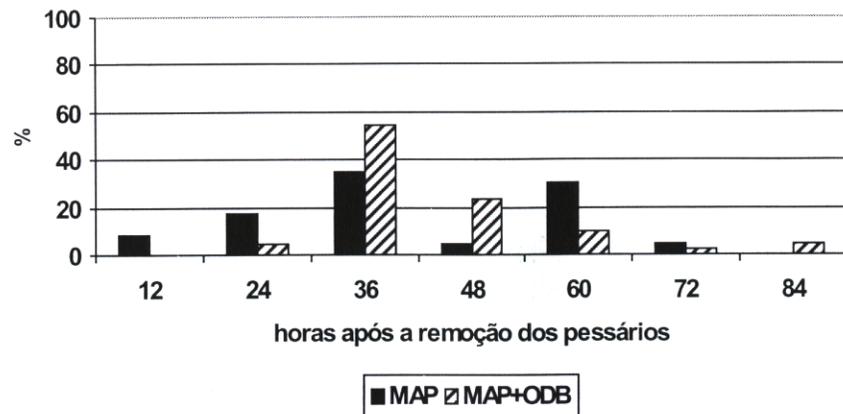
	MAP	MAP+ODB
Número de animais	177	137
Animais em cio (%)	39 (22%)	62 (45%)
Intervalo remoção cio (h)	67,28±2,87	50,02±2,26



**Figura 2.** Incidência de cio sincronizado em vacas com cria tratadas com um pessário contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona e injetadas (MAP+ODB) ou não (MAP) com 0,5mg de benzoato de estradiol 24h após a remoção dos pessários.

**TABELA 3.** Incidência e tempo para manifestação de cio e retorno de novilhas de 14 meses de idade sincronizadas com um pessário contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona e injetadas (MAP+ODB) ou não (MAP) com 0,5mg de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção dos pessários.

	MAP	MAP+ODB
Nº novilhas	51	49
Cio	27 (53%)	42 (86%)
Cio em 36 a 60 h	16 (31%)	37 (76%)
Intervalo remoção cio	45,00±3,78	43,71±2,85
Retorno	13 (46%)	19 (45%)
Retorno com ciclo curto	7/13	3/19



**Figura 3.** Incidência diária de cio de novilhas de 14 meses de idade sincronizadas com um pessário contendo 250mg de acetato de medroxi-progesterona e injetadas (MAP+ODB) ou não (MAP) com 0,5mg de benzoato de estradiol 24 horas após a remoção dos pessários.

### Referências Bibliográficas

- BO, G. A.; ADAMS, G. P.; PIERSON, R. A. & MAPLETOFT, R. J. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology* 43:31-40, 1995.
- BURKE, C. R.; BOLAND, M. P. & MACMILLAN, K. L. Ovarian responses to progesterone and oestradiol benzoate administered intravaginally during dioestrus in cattle. *Animal Reproduction Science* 55:23-33, 1999.
- BARUSELLI, P.S. & MARQUES, M.O. Programas de sincronização da ovulação em gado de corte. In: **Simpósio de Reprodução Bovina**, Sincronização de Estros em Bovinos, Anais... Porto Alegre, RS. Editado por BORGES, J. B. e GREGORY, R. M. 2002. p.41-60.
- BURKE, C. R.; MUSSARD, M. L.; GRUM, D E. & DAY, M. L. Effects of maturity of the potential ovulatory follicle on induction of oestrus and ovulation in cattle with oestradiol benzoate. *Animal Reproduction Science* 66:161-174, 2001.
- CACHAPUZ, J.M.S. Experiências com desmame aos 90 e 60 dias. 2. ed. EMATER/RS. Porto Alegre: EMATER-RS, 1997. 52 p.
- DRIANCOURT, M. A. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. *Theriogenology* 55:1211-1239, 2001.
- EVANS, A. C. O.; O'KEEFFE, P.; MIHM, M.; ROCHE, J. F.; MACMILLAN, K. L. & BOLAND, M. P. Effect of oestradiol benzoate given after prostaglandin at

two stages of follicle wave development on oestrus synchronization, the LH surge and ovulation in heifers. *Animal Reproduction Science* 2364:1-11, 2003.

- GORDON, I. **Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes**. CAB International, University Press Cambridge. 1996. 492 p.
- HANLON, D. W.; WILLIAMSON, N. B.; WICHEL, J. J.; STEFFERT, I. J.; CRAIGIE, A. L. & PFEIFFER, D. U. The effect of estradiol benzoate administration on estrous response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. *Theriogenology* 45:775-785, 1996.
- LANE, E. A., AUSTIN, E. J., ROCHE, J. F. & CROWE, M. A. The effect of estradiol benzoate on synchrony of estrus and fertility in cattle after removal of a progesterone-releasing intravaginal device. *Theriogenology* 55:1807-1818, 2001.
- MARTINEZ, M. F.; ADAMS, G. P.; KASTELIC, J. P.; BERGFELT, D. R. & MAPLETOFT, R. J. Induction of Follicular wave emergence for estrus synchronization and artificial insemination in heifers. *Theriogenology* 54:757-769, 2000.
- MARTINEZ, M. F.; KASTELIC, J. P.; ADAMS, G. P. & MAPLETOFT, R. J. The use of GnRH or estradiol to facilitate fixed-time insemination in an MGA-based synchronization regimen in beef cattle. *Animal Reproduction Science* 67:221-229, 2001.
- MIES FILHO, A. **Inseminação Artificial** 6ª edição. Editora Sulina, Poto Alegre, RS. 1987. 759p.
- MORAES, J. C. F. Controle da Reprodução em Bovinos de Corte. In: **Simpósio de Reprodução Bovina**, Sincronização de Estros em Bovinos, Anais... Porto Alegre, RS. Editado por BORGES, J. B. e GREGORY, R. M. 2002. p.32-40.
- NCSS. **Number Cruncher Statistical Systems**. Version 6.0.1. Users Manual, 1996
- www.usd-inc.com/pepi.html. PEPI. **Statistical Programs for Epidemiologists**. Version 3.0.
- ROBINSON, T. J. & SHELTON, J. N. Reproduction in Cattle. In: CUPPS, P. I. **Reproduction in Domestic Animals** 4ª edição. Academic Press, INC. San Diego, California, EUA. 1991. p. 445-470.
- ROCHE, J. F.; AUSTIN, E.; RYAN, M.; O'ROURKE, M.; MIHM, M. & DISKIN, M. Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *Journal of Reproduction Fertility Supplement* 54:61-71, 1999.
- SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica**. 1ª edição. McGraw-Hill do Brasil, São Paulo, Brasil, 1975. 350 p.
- VOGG, G.; SOUZA, C. J. H. & MORAES, J. C. F. Viabilidade do uso de benzoato de estradiol 24 horas após a sincronização de cios de novilhas de 14 e 24 meses com pessários contendo acetato de medroxi-progesterona. In: **Congresso Estadual de Medicina Veterinária**, Gramado, RS. 14(1):119-119. 1999.