

AVANÇOS NOS PROTOCOLOS DE SUPEROVULAÇÃO DE BOVINOS

**Manoel F. Sá Filho, Claudiney M. Martins, José Nélio S. Sales, Roberta M. Ferreira,
Pietro S. Baruselli.**

**Departamento de Reprodução Animal, FMVZ-USP, 05508-000, Sao Paulo-SP, Brasil.
manoelsa@usp.br ou barusell@usp.br**

INTRODUÇÃO

Segundo o último relatório da Sociedade Brasileira de Tecnologia de Embriões (SBTE, 2007), apesar da crescente produção brasileira de embriões *in vitro* (196.000) foram produzidos 70.000 embriões *in vivo* (Viana e Camargo, 2007), o que projeta aproximadamente 15.000 superovulações por ano. Esses resultados destacam o Brasil no cenário mundial de produção de embriões. Porém, os programas tradicionais de superovulação ainda apresentam algumas limitações como: 1) manejo para detecção de cio; 2) necessidade de iniciar o tratamento superestimulatório em momento específico do ciclo estral; 3) necessidade de detecção do cio para inseminação das fêmeas superestimuladas; 4) baixa consistência na produção de embriões viáveis por doadora; 5) cerca de 20 a 30% das doadoras não produzem embriões.

O objetivo desta revisão é discutir os novos avanços nos tratamentos de superestimulação em bovinos, levando em consideração os seguintes aspectos: 1) fatores que influenciam a resposta superovulatória, 2) controle da dinâmica folicular durante os tratamentos de superestimulação, 3) inseminação artificial em tempo fixo em doadoras superestimuladas; 4) determinação do momento apropriado para indução da ovulação visando a IATF, 5) número de administrações de FSH para superovulação, 6) uso da eCG para superestimulação e 7) uso do sêmen sexado em doadoras superovuladas e inseminadas em tempo fixo.

FATORES QUE AFETAM A RESPOSTA SUPEROVULATÓRIA EM BOVINOS

A variabilidade na resposta das doadoras ao tratamento superestimulatório com gonadotrofinas continua sendo um dos maiores problemas nos programas comerciais de TE (Mapletoft et al., 2002, Barros e Nogueira, 2004; Baruselli et al., 2006). Esta variação individual ao tratamento superovulatório foi relatada tanto em vacas Nelore (*Bos indicus*; Baruselli et al. 2003), quanto em vacas Holandesas de alta produção (*Bos taurus*; Martins, 2005).

No protocolo tradicional de superovulação (SOV), o tratamento com gonadotrofinas é iniciado na metade do ciclo estral (8-12 dias após ovulação). Esta metodologia apresenta algumas dificuldades por requerer a detecção do “cio base” para o início do tratamento superestimulatório (Mapletoft et al., 2002).

A ausência do folículo dominante e a realização da superovulação no início da onda de crescimento folicular aumentam a eficiência dos programas de SOV (Mapletoft et al., 2002). Sendo assim, alternativas para o controle da emergência da onda de crescimento folicular em momentos aleatórios do ciclo estral, sem a necessidade de detecção do estro para o estabelecimento do “cio base” podem facilitar o manejo de doadoras tanto *Bos taurus* quanto *Bos indicus*, bem como aumentar a eficiência dos programas de transferência de embriões (Baruselli et al., 2006; Bo et al., 2006).

CONTROLE DA DINÂMICA FOLICULAR PARA A SUPEROVULAÇÃO EM BOVINOS

O tratamento eletivo para a indução da emergência da nova onda de crescimento folicular é a associação de estradiol (E2) e progesterona (P4). A eficiência desta associação tem sido descrita em diversos trabalhos em fêmeas *Bos taurus* (Bó et al., 1991; Bó et al., 1995; Colazo et al., 2003). Nosso grupo de pesquisa tem estudado o efeito do tratamento com estradiol e progesterona na emergência da onda folicular em *Bos indicus*, *Bos taurus* x *Bos indicus* e *Bos taurus* mantidas nas mesmas condições de manejo (Carvalho et al., 2008). Não foi observada diferença no intervalo entre o tratamento com benzoato de estradiol e a emergência folicular entre *Bos indicus*, *Bos taurus indicus* e *Bos taurus* (3 a 4 dias). Entretanto, verificou-se que novilhas *Bos indicus* recrutam maior número de folículos no início da onda de crescimento folicular que novilhas *Bos taurus*, sugerindo maior resposta superestimulatória ao tratamento com gonadotrofinas em fêmeas *Bos indicus*.

INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL EM TEMPO FIXO EM PROGRAMAS DE SUPEROVULAÇÃO

A manifestação do estro em *Bos indicus* apresenta grande variabilidade devido principalmente a peculiaridades como: curto período de aceitação de monta e alta incidência de cios noturnos (Bo et al., 2003), o que aumenta a possibilidade de erros na detecção e dificulta a programação prévia da data da colheita dos embriões. Sendo assim, diversos estudos têm procurado avaliar a possibilidade do controle farmacológico da ovulação, com o objetivo de viabilizar a inseminação artificial em tempo fixo de fêmeas *Bos indicus* e *Bos taurus* superestimuladas (Zanenga et al., 2003; Martins, 2005; Baruselli et al., 2006; Bo et al., 2006).

Delineamos um experimento para avaliar o momento da retirada do dispositivo de P4 em vacas Nelore superovuladas e inseminadas em tempo fixo (IATF). No primeiro grupo (P24) o dispositivo foi retirado 24 horas após a PGF2 α , administrada juntamente com a sexta dose de FSH. Administrou-se 25 mg de LHp 48 horas após a PGF2 α . O segundo grupo (P36) recebeu protocolo semelhante ao do primeiro, exceto a retirada do dispositivo (36 horas após a PGF2 α). Todas as doadoras foram inseminadas 12 e 24 horas após o LH. Sete dias após o tratamento com LH foram realizadas a colheita e a classificação dos embriões (Zanenga et al., 2003). Os resultados são sugestivos de que a retirada do dispositivo de progesterona 24 ou 36 horas após a administração de PGF2 α , seguido da indução da ovulação com LH (48h após a PGF2 α) com a IATF 12 e 24 horas após o LH é um protocolo viável para programas de superovulação e transferência de embriões em *Bos indicus*, eliminando a necessidade de detecção de estro e possibilitando a programação precisa das atividades de sincronização, de colheita e transferência dos embriões.

DETERMINAÇÃO DO MOMENTO APROPRIADO PARA INDUÇÃO DA OVULAÇÃO VISANDO A IA EM TEMPO FIXO.

Investigamos o momento mais apropriado para induzir as ovulações para inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore (*Bos indicus*) e em vacas Holandesas (*Bos taurus*) superovuladas. Dentre as particularidades fisiológicas que diferenciam vacas *Bos indicus* de *Bos taurus* podemos citar: o diâmetro folicular na divergência e o diâmetro no qual o folículo atinge capacidade ovulatória. Verificou-se que fêmeas *Bos indicus* atingem a divergência folicular com diâmetro inferior que fêmeas *Bos taurus* (6,2mm; Gimenes et al., 2005 para *Bos indicus* e 8,5mm; Ginther et al., 1996 para *Bos taurus*). Nota-se, ainda, que fêmeas *Bos taurus* atingem capacidade ovulatória com diâmetros superiores (>10mm) comparado com fêmeas *Bos indicus* (> 7,5mm; Gimenes et al., 2008).

Levando em consideração essas particularidades, realizamos experimentos com o intuito de atrasar a administração do indutor de ovulação (de 12 para 24 horas após o último FSH) em doadoras *Bos taurus* para tentar aumentar a resposta superovulatória e produção de embriões. Em doadoras Holandesas, o tratamento com o indutor de ovulação (LHp ou GnRH) 24h após o último FSH resulta em aumento na resposta superovulatória e maior número de embriões transferíveis (Rodrigues et al., 2005; Martins, 2005). Rodrigues et al. (2005) observaram redução no número de folículos não ovulatórios (>10mm) no momento da colheita dos embriões e aumento numérico de embriões transferíveis quando o GnRH foi administrado 24h, comparado com 12h após o último tratamento como FSH. Martins (2005), também observou aumento no número de embriões transferíveis quando o LHp foi administrado 24h, comparado com 12h após o último FSH. Baseado nestes resultados é possível concluir que o intervalo de 24h após o último FSH (60h após o tratamento como PGF2 α) é adequado para induzir a ovulação em vacas Holandesas (*Bos taurus*) superovuladas.

Para tentar estudar o melhor momento para induzir a ovulação em *Bos indicus* realizamos um experimento atrasando 12 horas a indução das ovulações em doadoras Nelore (12 ou 24h após o último FSH; Martins et al., 2006), semelhantemente ao realizado para vacas Holandesas. As fêmeas foram subdivididas para receber LHp 12 ou 24h após a última administração de FSH (Dia 8 manhã e tarde), sendo posteriormente inseminadas 12 e 24 h após o LH. Verificamos que o atraso no indutor de ovulação de LH de 12 para 24h após a última administração de FSH diminuiu ($p < 0,05$) o número de embriões transferíveis e congeláveis e aumentou ($p < 0,01$) o número de embriões degenerados. Estes dados são sugestivos de que a administração do indutor de ovulação 12 horas após o último FSH (dia 8 pela manhã) seja apropriada para induzir a ovulação em vacas Nelore (*Bos indicus*) submetidas ao protocolo de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo.

NÚMERO DE ADMINISTRAÇÕES DE FSH PARA SUPEROVULAÇÃO

Com o intuito de reduzir o número de manejos em protocolos de superovulação em tempo fixo, realizamos dois experimentos para avaliar a resposta superovulatória em doadoras Nelore (*Bos indicus*) conforme o número de administrações de FSH (Martins et al., 2008). No Experimento 1, 24 vacas Nelore receberam um dispositivo intravaginal de progesterona associado a 2mg de BE no D0. No D4, as doadoras foram alocadas em um de três grupos. No grupo 2FSH, as vacas receberam 133mg de FSH em duas administrações (70% no D4 manhã (M) e 30% no D6M), no Grupo 4FSH a mesma quantidade de FSH foi dividida em quatro administrações em doses decrescentes (40% no D4M, 30% no D5M, 20% no D6M e 10% no D7M) e no grupo 8FSH (convencional), as vacas receberam 8 administrações de FSH de 12/12 horas em doses decrescentes. Utilizou-se o delineamento cross-over, no qual todas as doadoras passaram por todos os tratamentos (72 superovulações). No D6M, administrou-se PGF e o dispositivo de progesterona foi retirado no D7 (tarde (T); 36 após a PGF). No D8M, administrou-se 25mg de LH. A IATF foi realizada 12 e 24 horas após o indutor de ovulação. As coletas de embriões foram realizadas no D15. Os resultados estão expostos na Tabela 1. Os dados são indicativos de que houve diferença na produção de embriões entre os Grupos 2FSH e 8FSH, sendo menos eficiente para o grupo com menor número de tratamentos. No entanto, o grupo 4FSH apresentou resultado semelhante ao grupo convencional, mostrando ser uma opção para reduzir o número de administrações de FSH para superovulação em doadoras Nelore.

O Experimento 2 teve como objetivo avaliar a produção de embriões com 3 administrações de FSH (133mg dose total). Utilizou-se o mesmo delineamento experimental do Experimento 1, diferindo no momento da retirada do dispositivo (D7M nos grupos 2FSH, 3FSH e D7T no

grupo 8FSH). No Grupo 3FSH, as administrações de FSH foram realizadas no D4M (40%) no D5T (40%) e no D7M (20%). No Grupo 2FSH, as administrações foram no D4M (50%) e no D5T (50%). Os dados estão apresentados na Tabela 2. Os resultados foram semelhantes ao encontrado no Experimento 1, no qual a produção de embrião foi inferior no grupo 2FSH. No entanto, os dados foram semelhantes entre os grupos 3FSH e 8 FSH, indicando que a redução no número de administrações de FSH em protocolos de superovulação é uma alternativa viável para programas de transferência de embriões *in vivo* com a vantagem de reduzir o número de manejos para promover a superovulação.

Tabela 1 - Efeito do número de administrações de FSH (2, 4 ou 8 vezes) na resposta superovulatória de vacas Nelore (*Bos indicus*), Poços de Caldas-MG (adaptado de Martins et al., 2008).

	Número de administrações de FSH			P
	2	4	8	
Número de animais	24	24	24	
Nº de folículos no D4	11,1±0,8	10,8±0,7	10,3±0,6	0,66
Nº de folículos no LH	11,3±0,8 ^b	13,9±0,7 ^a	14,8±0,7 ^a	0,003
Nº de CLs no D15	7,3±0,6 ^b	8,8±0,6 ^{ab}	10,8±0,6 ^a	0,001
Total de estruturas	7,1±0,8 ^b	8,0±0,6 ^{ab}	8,7±0,6 ^a	0,06
Emb. transferíveis	5,42±0,63 ^b	6,33±0,54 ^{ab}	7,67±0,53 ^a	0,008
Emb. congeláveis	4,71±0,61 ^b	5,54±0,42 ^{ab}	6,71±0,44 ^a	0,01
Emb. não fertilizados	1,00±0,34 ^a	1,29±0,42 ^a	0,33±0,10 ^b	0,004
Emb. degenerados	0,62±0,16	0,38±0,13	0,67±0,17	0,34

Tabela 2 - Efeito do número de administrações de FSH (2, 3 ou 8 vezes) na resposta superovulatória de vacas Nelore (*Bos indicus*), Poços de Caldas- MG (adaptado de Martins et al., 2008).

	Número de administrações de FSH			P
	2	3	8	
Número de animais	12	12	12	
Nº de folículos no D4	12,0±1,1	11,3±0,9	12,5±1,0	0,63
Nº de folículos no LH	8,9±0,5 ^b	15,8±0,9 ^a	16,1±1,1 ^a	0,001
Nº de folículos no D15	1,33±0,41	2,50±0,42	1,83±0,17	0,14
Nº de CLs no D15	7,08±0,58 ^b	11,83±0,83 ^a	12,83±0,68 ^a	0,001
Total de estruturas	5,92±0,77 ^b	9,33±0,79 ^a	10,83±0,95 ^a	0,002
Emb.. transferíveis	4,83±0,59 ^b	7,00±0,59 ^a	7,25±0,49 ^a	0,045
Emb. congeláveis	4,17±0,49 ^b	6,58±0,57 ^a	6,92±0,43 ^a	0,018
Emb. não fertilizados	0,42±0,19	1,33±0,39	2,08±0,61	0,79
Emb. degenerados	0,50±0,36	1,00±0,35	1,50±0,58	0,99

USO DA ECG PARA SUPERESTIMULAÇÃO

Estudamos a hipótese de que é possível obter resultados satisfatórios quando do emprego de eCG para superovulação, associado ao protocolo de sincronização da onda de crescimento folicular e da ovulação em doadoras Nelore e Holandesas. Em *Bos indicus* (Nelore; Martins et al., 2006), um total de 12 doadoras foi dividido em três grupos: eCG-2500UI; eCG-2000UI e FSH-100mg (*cross-over*). Os animais receberam um dispositivo de P4 associado a 2 mg de BE no Dia 0. Nos tratamentos com eCG (Novormon[®]), a superestimulação foi realizada com a administração única de 2500 ou 2000 UI de eCG no Dia 4. No tratamento com FSH, administrou-se 100mg de Folltropin-V[®] em 8 doses decrescentes de 12/12 horas, a partir do Dia 4. No Dia 6, administrou-se PGF. Os

dispositivos foram retirados 36 horas após a administração de PGF2 α , e o LH aplicado 48 horas após a PGF2 α (Dia 8 M). Foi realizada uma única inseminação 16 horas após o tratamento com LH. A colheita dos embriões foi realizada no Dia 15. Não foram observadas interações, sendo os efeitos dos tratamentos eCG-2500UI; eCG-2000UI e FSH-100mg, respectivamente: taxa de ovulação (33,1%^b; 58,4%^a e 65,9%^a; P<0,0001), estruturas totais (5,9 \pm 1,0; 7,6 \pm 1,0; 5,7 \pm 1,4; P=0,50), embrião Grau 1 (3,4 \pm 0,7; 5,8 \pm 0,9; 3,5 \pm 0,7; P=0,06), e embriões transferíveis (4,4 \pm 0,7; 6,9 \pm 1,0; 4,6 \pm 0,9; P=0,08) e embriões congeláveis (3,8 \pm 0,7^b; 6,7 \pm 1,0^a; 4,2 \pm 0,8^{ab}; P=0,03). O tratamento com 2000UI de eCG produziu número semelhante de embriões transferíveis comparado ao grupo tratado com FSH.

Realizamos outro tratamento para verificar a possibilidade de superovular doadoras Nelore com 1.500UI de eCG (Martins et al., 2007). Empregou-se o mesmo delineamento experimental do experimento anterior, diferindo apenas na dose para superovulação: eCG-1500UI, eCG-2000UI e FSH-133mg. Os resultados para os tratamentos foram: total de estruturas (4,7 \pm 1,0^b; 7,7 \pm 0,1^a; 8,7 \pm 1,3^a; P=0,001), embriões viáveis (3,08 \pm 0,61^b; 6,67 \pm 1,08^a; 7,42 \pm 1,11^a; P=0,003) e embriões congeláveis (2,83 \pm 0,53^b; 6,33 \pm 1,09^a; 6,50 \pm 1,19^a; P=0,009). O tratamento com 1500UI de eCG apresentou melhor produção de embriões. Entretanto, a dose de 2000UI de eCG apresentou novamente a mesma eficiência que os animais superovulados com FSH, mostrando ser uma alternativa viável para programas de TE com inseminação artificial em tempo fixo em zebuínos, com vantagens significativas quanto ao manejo das doadoras.

Em experimento recente (Martins, 2008 - dados ainda não publicados), avaliamos o efeito da eCG na resposta superovulatória em doadoras Holandesas (*Bos taurus*). Um total de 12 vacas foi dividido em três grupos de acordo com o tratamento superestimulatório: 200mg FSH, 2000UI eCG e 2500UI eCG (*cross-over*). Utilizou-se o mesmo delineamento experimental do estudo anterior em doadoras Nelore. Os resultados estão apresentados na Tabela 3. Apesar do grupo 2000UI eCG apresentar menor número de corpos lúteos que o grupo 200mg FSH, não foi observado diferença estatística na produção de embriões entre os tratamentos (200mg FSH, 2000UI eCG e 2500UI eCG), indicando que é possível também superovular doadoras Holandesas com dose única de eCG.

Tabela 3 - Efeito da eCG (2000UI e 2500UI) na resposta superovulatória de vacas Holandesas (*Bos taurus*) inseminadas em tempo fixo, Poços de Caldas-MG.

	200mg FSH	2000UI eCG	2500UI eCG	P
Número de animais	12	12	12	
Nº de CLs no D15	13,42 \pm 1,26 ^a	9,91 \pm 1,29 ^b	12,3 \pm 1,18 ^{ab}	0,04
Total de estruturas	9,58 \pm 1,21	7,67 \pm 0,98	10,41 \pm 0,82	0,10
Emb. transferíveis	7,92 \pm 1,05	6,67 \pm 1,07	8,08 \pm 0,74	0,35
Emb. congeláveis	7,00 \pm 1,06	6,33 \pm 1,09	6,75 \pm 0,51	0,57
Emb. não fertilizados	0,75 \pm 0,13	0,58 \pm 0,36	0,25 \pm 0,18	0,77
Emb. degenerados	0,91 \pm 0,34	0,42 \pm 0,19	2,08 \pm 0,67	0,56

Para avaliar a eficiência de sucessivos tratamentos com eCG na produção de embriões, realizamos um experimento com 10 doadoras Nelore superovuladas por 4 vezes consecutivas, com intervalos de 35 dias (Martins et al., 2008). O grupo controle (n=10) foi superovulado simultaneamente com FSH. Verificou-se que até o terceiro tratamento superovulatório as vacas do grupo eCG produziram quantidades semelhantes de embriões em relação à primeira superovulação comparadas as vacas do Grupo FSH. No entanto, a partir do quarto tratamento superovulatório o grupo eCG produziu reduzidas quantidades de

embriões transferíveis. Devido à significativa redução na produção de embriões a partir do quarto tratamento com eCG, as doadoras desse grupo foram superovuladas pela quinta vez com FSH. Verificou-se que as doadoras retornaram produzir semelhantes quantidades de embriões comparadas ao grupo controle. Os resultados estão apresentados na Figura 1. Esses dados são sugestivos de que é possível superovular doadoras com eCG por 3 vezes consecutivas. A partir da quarta superovulação, os animais deveriam ser superovulados com FSH. Novos trabalhos devem ser conduzidos para verificar o duração do efeito negativo da superovulação contínua com eCG.

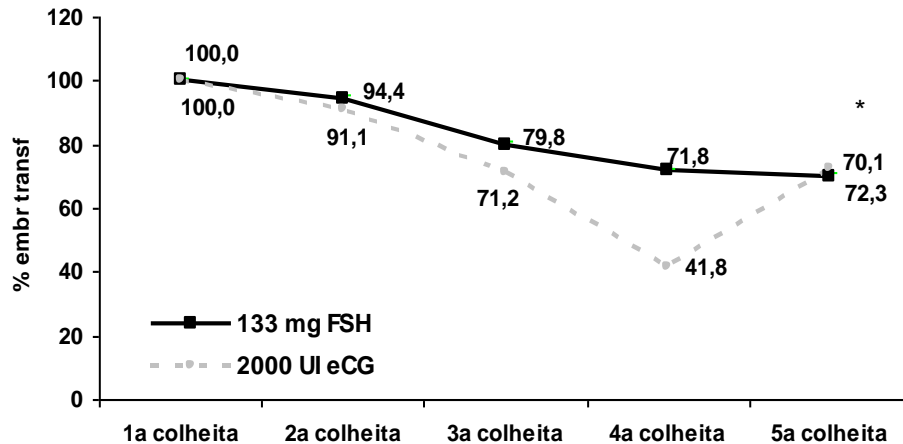


Figura 1. Percentual do número de embriões transferíveis (grau 1, 2 e 3) em relação à primeira colheita em doadoras Nelore (*Bos indicus*) superovuladas por 4 vezes (intervalo de 35 dias) com FSH (n=10) ou com eCG (n=10) e inseminadas em tempo fixo.*No quinto tratamento superovulatório todos animais foram superovulados com FSH.

CONCLUSÃO

Os resultados são indicativos de que é possível sincronizar a emergência da onda folicular e iniciar o tratamento superestimulatório em doadoras *Bos indicus* sem a necessidade de se conhecer a fase do ciclo estral. Além disso, o tratamento com LHp ou GnRH 12h (*Bos indicus*) ou 24h (*Bos taurus*) após a última administração de FSH sincroniza as ovulações, possibilitando o emprego da inseminação artificial em tempo fixo, sem a necessidade de detecção do cio. Ainda, é possível realizar somente uma única IATF (16h após o tratamento com LHp), sem comprometer os resultados. Existem dados que suportam a possibilidade de diminuir a quantidade de administrações de FSH para superovulação em doadoras Nelore, facilitando o manejo sem comprometer os resultados. Finalmente, embora exista a necessidade de mais estudos sobre a administração da eCG para superestimulação ovariana, seu uso possibilita racionalização de manejo sem comprometer as taxas de produção de embriões em protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo em doadoras Nelore (*Bos indicus*) e Holandesas (*Bos indicus*).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROS, C.M.,; NOGUEIRA, M.F.G. Superovulação em zebuínos de corte. In: 1º. Simpósio Internacional de Reprodução Animal Aplicada. Londrina, p. 212-222, 2004.
- BARUSELLI, P.S.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; NASSER, L.F.T.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C.M.; BÓ, G.A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* cattle. *Theriogenology*, v.65, p.77-88, 2006.

- BARUSELLI, P.S.; MARQUES, M.O.; REIS, E.L.; NASSER, L.F.T.; SILVA, R.C.P; MENEGATTI, J.A.; VALENTIN, R.; SANTOS, I.C.C. Adequação da dose de FSH (Follitropin-v) em protocolos de superovulação de vacas Nelore (*Bos indicus*) com inseminação artificial em tempo fixo (SOTF). **Acta Sci. Vet.**, v.31, p.244-245, 2003.
- BARUSELLI, P.S.; MARTINS, C.M.; REIS, P.O.; AYRES, H.; FERREIRA, R.M.; SALES, J.N.S.; CREPALDI, G.A. Produção de embriões de vacas Nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo com sêmen sexado, **Acta. Sci. Vet.**, 2008, *in press*.
- BÓ, G.A.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. **Theriogenology**, v.36, p.169-183, 1991.
- BÓ, G.A.; ADAMS, G.P.; CACCIA, M.; MARTINEZ, M.; PIERSON, R.A.; MAPLETOFT, R.J. Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.39, p.193-204, 1995.
- BÓ, G.A; BARUSELLI, P.S.; MARTINEZ, M.F . Pattern and manipulation of follicle development in *Bos indicus* cattle. **Anim. Reprod. Sci.**, v.78, p.307-326, 2003.
- BÓ, G.A; BARUSELLI, P.S. ; CHESTA, P.M ; MARTINS, C.M. The timing of ovulation and insemination schedules in superstimulated cattle. **Theriogenology**, v.65, p.89-101, 2006.
- CARVALHO JBP, CARVALHO NAT, REIS EL, NICHÍ M, SOUZA AH, BARUSELLI PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus* × *Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.167-175, 2008.
- COLAZO, M.G.; KASTELIC, J.P.; MAPLETOFT, R.J. Effects of estradiol cypionate (ECP) on ovarian follicular dynamics, synchrony of ovulation, and fertility in CIDR-based, fixed-time AI programs in beef heifers. **Theriogenology**, v.60, p.855-865, 2003.
- GIMENES, L.U.; CARVALHO, N.A.T.; SÁ FILHO, M.F.; SANTIAGO, L.L.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J. Capacidade ovulatória em novilhas *Bos indicus*. **Acta. Sci. Vet.**, v.33, p.209, 2005.
- GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; CARVALHO, N.A.T.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; MADUREIRA, E.H.; TRINCA, L.A.; SARTORELLI, E.S.; BARROS, C.M.; CARVALHO, J.B.P.; MAPLETOFT, R.J.; BARUSELLI, P.S. Follicle deviation and ovulatory capacity in *Bos indicus* heifers. **Theriogenology**, v.69, p.852-858, 2008.
- GINTHER, O.J.; WILTBANK, M.C.; FRICKE, P.M.; GIBBONS, J.R.; KOT, K. Selection of the dominant follicle in cattle. **Biol. Reprod.**, v.55, p.1187-1194, 1996.
- MAPLETOFT, R.J.; STEWARD, K.B.; ADAMS, G.P. Recent advances in the superovulation in cattle. **Reprod. Nutr. Dev.**, v.42, p.601-11, 2002.
- MARTINS, C.M. Adequação do protocolo de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo em *Bos taurus*. Tese de mestrado, 2005.
- MARTINS, C.M.; TORRES-JÚNIOR, J.R.S.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Resposta superovulatória e produção de embriões de doadoras Nelore (*Bos indicus*) submetidas à indução da ovulação com GnRH ou LH para inseminação em tempo fixo. **Acta. Sci. Vet.**, v.34, p.227, 2006.
- Martins, C.M.; Torres-Júnior, J.R.S.; Souza, A.H.; SOUSA, M.G.; Baruselli, P.S. Superovulação com eCG ou FSH em doadoras Nelore (*Bos indicus*) inseminadas em tempo fixo. **Acta. Sci. Vet.**, v.34, p.227, 2006.

- MARTINS, C.M.; OLIVEIRA, L.G.; CREPALDI, G.A.; SALES, J.N.S.; BARUSELLI, P.S. Efeito de diferentes doses de eCG na resposta superovulatória de doadoras Nelore (bos indicus) inseminadas em tempo fixo. *Acta. Sci. Vet.*, v.35, p.1237, 2007.
- MARTINS, C.M.; SANTOS, I.C.C.; VALENTIM, R.; SALES, J.N.S.; REIS, P.O.; CREPALDI, G.A.; BARUSELLI, P.S.; D'OCCHIO, M.J. Efeito da redução do número de administrações de FSH na resposta superovulatória e na produção de embriões de doadoras nelore. *Acta Sci Vet* 2008, in press.
- RODRIGUES, C.A.; MANCILHA, R.F.; REIS, E.L.; AYRES, H.; GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; Efeito do número de implantes de norgestomet e do momento da administração do indutor de ovulação em vacas holandesas superovuladas. *Acta Sci Vet.*, v.33, p.229, 2005.
- VIANA, J.H.M.; CAMARGO, L.S.A. A produção de embriões bovinos no Brasil: Uma nova realidade. *Acta. Sci. Vet.*, v.35, p.915-924, 2007.
- ZANENGA, C.A; MARQUES, M.O.; SANTOS, I.C.C; VALENTIN, R.; BARUSELLI, P.S. Comparação entre dois protocolos de superovulação com inseminação artificial em tempo fixo em vacas Nelore (*Bos taurus indicus*). *Acta Sci Vet*, v. 31, p. 626-627, 2003.