



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS**

**USO DE DIFERENTES INDUTORES DE OVULAÇÃO EM PROTOCOLO
COSYNCH EM VACAS DE CORTE**

MARIANA ALVES DE ANDRADE SILVA

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

2014

MARIANA ALVES DE ANDRADE SILVA

**USO DE DIFERENTES INDUTORES DE OVULAÇÃO EM PROTOCOLO
COSYNCH EM VACAS DE CORTE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientadora: Profa. Dra. Larissa Pires Barbosa.

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA

COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

MARIANA ALVES DE ANDRADE SILVA

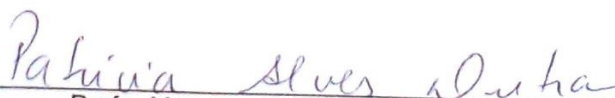
USO DE DIFERENTES INDUTORES DE OVULAÇÃO EM PROTOCOLO
COSYNCH EM VACAS DE CORTE



Profa. Dra. Larissa Pires Barbosa
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Prof. MSc. Carmo Emanuel Almeida Biscarde
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Profa. Msc. Patrícia Alves Dutra
Doutoranda da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas, 26 de março de 2014.

AGRADECIMENTOS

Primeiro, a DEUS, por ter me concedido a minha linda família, que me deu a oportunidade de realizar meu sonho de infância.

Aos meus pais, GILSON e NELCY, pelo amor incondicional e por ter dedicado suas vidas em prol da minha e dos meus irmãos. O amor que sinto por vocês é indescritível.

À minha TIA ANGELA, pelo amor de mãe, pelos conselhos, pelas oportunidades dadas a mim. Sem você não poderia ter vivido muitas das histórias que tive ao longo da vida.

Aos meus irmãos, LUCAS, GABI e MINHA VÓ AMADA, por todo carinho, apoio e pelo incentivo a buscar meu caminho.

Aos meus três amores, MONNA, CAU e ANDERSON, por terem dividido muitos momentos de alegrias e por terem contribuído para que hoje eu seja uma pessoa muito diferente da Mariana que eu era. Assim como, ao meu amigo BIANOR, seus conselhos foram sempre muito bem acolhidos. Amo vocês!

À minha orientadora, Prof^a LARISSA, por todo o carinho, compreensão, pelos ensinamentos de profissão e vida. Com toda certeza a senhora é uma inspiração.

Ao Med. Vet. CARMO, pela disponibilidade de sempre, pelo seu amor a profissão que muitas vezes nos leva a encarar algumas dificuldades de outra forma. Muito obrigada Carminho, você se tornou um grande amigo!

À Med. Vet. ROSILÉIA, pela contribuição nas análises estatísticas dos dados. A THAÍS pela ajuda com as formatações. Muito obrigada

Aos amigos VINÍCIUS, RAI, JUNINHO, WIL, RENAN, por estarem sempre presentes nas horas de trabalho e alegria, pelo convívio durante a graduação e pelo trabalho em equipe para realização desse experimento.

Aos funcionários do Setor, CLODOALDO e DANILO, pelo apoio no manejo dos animais experimentais e pela amizade.

Aos estagiários da reprodução, agregados e amigos, FERNANDO, RONI, TIAGO, WILLIAN, ROSE, LAIARA, QUEILANE, ANITA, DANIEL, LAURA, TAINÃ, ANA PAULA, TALITA, que me ajudaram na organização, na execução e coleta dos dados experimentais. Muito obrigada pessoal. Vocês foram essenciais.

“...Hoje os ventos do destino
Começaram a soprar
Nosso tempo de menino
Foi ficando para trás
Com a força de um moinho
Que trabalha devagar
Vai buscar o teu caminho
Nunca olha para trás...”

(Depois de nós. Engenheiros do Hawaii)

RESUMO

Avaliou-se a eficiência do acetato de lecorelina e da gonadotrofina coriônica humana (hCG) em substituição à gonadorelina em protocolos *Cosynch* para vacas de corte. Trinta e duas vacas foram distribuídas em três tratamentos (T), sendo T1 (n=10): aplicação de 100µg do análogo de hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), gonadorelina, no D0; seguida da aplicação de 150µg de d-cloprostenol, no D7 e 100µg do análogo de GnRH, gonadorelina, no D9; T2 (n=11): aplicação de 25µg do análogo de GnRH, acetato de lecorelina, no D0; seguida da aplicação de 150µg de d-cloprostenol, no D7 e de 25µg do análogo de GnRH, acetato de lecorelina, no D9 e T3 (n=11): aplicação de 1.000UI de hCG, no D7; 150µg de d-cloprostenol, no D7 e 1.000UI de hCG, no D9. Todos os hormônios foram aplicados por via intramuscular (IM). As inseminações artificiais em tempo fixo foram realizadas no D9 do protocolo, após aplicação hormonal. A avaliação do comportamento estral foi iniciada no D7 do protocolo, os animais foram rufiados e observados de 12 em 12 horas, até o final do estro. Foi avaliada a porcentagem de fêmeas em estro, o início do estro, o final do estro, a duração do estro, o intervalo entre a aplicação da PGF₂α e o início do estro, o intervalo entre a aplicação da PGF₂α e o final do estro, taxa de gestação e custo dos protocolos. Não houve diferença para nenhuma das variáveis analisadas (P>0,05). A porcentagem de animais em estro foi de 20,00; 45,00 e 18,00%, para T1, T2 e T3, respectivamente. A duração do estro foi de 13,66±1,10 horas (h), para T1; 17,78±8,9h, para T2 e 11,93±0,66h, para T3. O intervalo entre a aplicação da PGF₂α e o início do estro foi de 41,27±7,85h, para T1; 51,58±16,86h, para T2 e de 49,94±19,76h, para T3. O intervalo entre a aplicação de PGF₂α e o final de estro foi de 54,96±8,94h, para T1; 69,36±7,97h, para T2 e de 61,88±19,10h, para T3. A taxa de gestação foi de 20,00; 18,00 e 9,00%, para o T1, T2 e T3, respectivamente. Os custos dos protocolos foram de R\$ 15,00; R\$ 12,67 e de R\$ 17,88, para T1, T2 e T3, respectivamente. O uso de hCG ou de acetato de lecorelina em substituição à gonadorelina em protocolos *Cosynch* não alterou o comportamento estral e taxa de gestação de vacas de corte.

Palavras-chave: Taxa de gestação, comportamento estral, custos.

ABSTRACT

It was evaluated the efficiency of lecorelin acetate and human chorionic gonadotrophin (hCG) to replace gonadorelina in Cosynch protocols for beef cows. Thirty-two cows were assigned to three treatments (T): T1 (n = 10) received 100µg injections of the analogue of gonadotropin-releasing hormone (GnRH), gonadorelin, in D0 , then the application of 150µg of d-cloprostenol, on D7 and 100µg of GnRH analogue, gonadorelin, D9; T2 (n = 11) received injections of 25 mcg of GnRH analogue, ethyl lecorelin on d0 followed by the application of 150µg of d- cloprostenol on D7 and 25 mcg of GnRH analogue, ethyl lecorelin , D9 and T3 (n = 11) received injections of hCG 1.000UI in D7; 150µg d- cloprostenol on D7 and 1.000UI hCG D9. All hormones were administered intramuscularly (IM). The artificial inseminations fixed-time were performed at D9 protocol, after hormone application. Evaluation of estrous behavior was initiated on D7 of the protocol, the animals were observed rufiados and 12 in 12 hours, until the end of estrus. The percentage of females in estrus was evaluated, the onset of estrus, the end of estrus, duration of estrus, the interval between the application of PGF2a and the onset of estrus, the interval between the application of PGF2a and end of estrus rate cost of pregnancy and protocols. There was no difference for any of the variables ($P > 0.05$). The percentage of animals in estrus was 20.00, 45.00 and 18.00%, for T1, T2 and T3, respectively. The duration of estrus was 13.66 ± 1.10 hours (h), for T1, 17.78 ± 8.9 h for T2 and 11.93 ± 0.66 h for T3. The interval between the application of PGF2a and estrus onset was 41.27 ± 7.85 h , for T1, 51.58 ± 16.86 h for T2 and 49.94 ± 19.76 h for T3. The interval between the application of PGF2a and end of estrus doi 54.96 ± 8.94 h , for T1, 69.36 ± 7.97 h for T2 and 61.88 ± 19.10 h for T3. The pregnancy rate was 20.00, 18.00, and 9.00 % for T1, T2 and T3, respectively. The costs of the protocols were £ 15.00, R \$ 12.67 and R \$ 17.88 for T1, T2 and T3, respectively. The use of hCG or of lecorelin acetate to replace Gonadorelin in Cosynch protocols did not alter estrous behavior and pregnancy rate of beef cows .

Keywords: Rate of pregnancy, estrous behavior, costs.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1- Protocolos <i>Cosynch</i> utilizados e intervalos das avaliações comportamentais realizadas nos tratamentos experimentais.....	19
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Valor por hormônio cotado no Recôncavo da Bahia, Brasil em Setembro de 2013.....	20
Tabela 2- Comportamento estral de vacas de corte utilizando diferentes indutores de ovulação em protocolo <i>Cosynch</i>	21
Tabela 3- Taxa de gestação e custos dos protocolos <i>Cosynch</i> utilizando diferentes indutores de ovulação em vacas de corte.....	23

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

D	Dia
E2	Estrógeno
GnRH	Hormônio Liberador de Gonadotrofinas
H	Hora
hCG	Gonadotrofina Coriônica Humana
IA	Inseminação Artificial
IATF	Inseminação Artificial em Tempo Fixo
LH	Hormônio Luteinizante
µg	Microgramas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Protocolos de IATF livre de progesterona para bovinos	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5 CONCLUSÃO	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

O melhoramento do potencial genético tem se desenvolvido substancialmente nos últimos 20 anos, com o auxílio da utilização de biotécnicas como a Inseminação Artificial (IA) e a Inseminação Artificial em Tempo Fixo (IATF) (BARUSELLI et al., 2006).

Em todo o mundo, há relatos que indicam baixa taxa de serviço em bovinos inseminados artificialmente, principalmente em decorrência de comprometimento na detecção do estro. Quando poucas vacas são detectadas em estro, ocorrem significativas perdas na eficiência reprodutiva do rebanho e comprometimento do programa de IA (BARUSELLI et al., 2006). Esse comprometimento é ainda maior em rebanhos *Bos indicus*, cujo comportamento reprodutivo apresenta particularidades, como estros de curta duração, com elevado percentual de manifestação durante o período noturno (PINHEIRO et al., 1998).

Desta forma, a IATF tem sido cada vez mais utilizada, já que se trata de uma ferramenta útil no manejo reprodutivo de fêmeas de várias espécies, principalmente bovina e proporciona diversas vantagens como aumento da taxa de serviço, concentração de mão de obra em dias pré-determinados, planejamento de partos e da estação de monta subsequente, concentração e planejamento da desmama de bezerras em gado de corte e aumento da produção em rebanhos de leite (PALHANO et al., 2012).

Pursley et al. (1995) apresentaram os resultados de trabalhos desenvolvidos com IATF para otimizar a reprodução em fêmeas bovinas leiteiras. Para essa finalidade, foi elaborado um protocolo de manipulação hormonal envolvendo o hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) e a prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), formando ambos, a base do primeiro protocolo para IATF, denominado como *OvSynch*.

Esse protocolo consiste na administração de GnRH, seguida da aplicação de $PGF_{2\alpha}$ sete dias após e de uma segunda aplicação de GnRH, 48 horas após o tratamento com $PGF_{2\alpha}$ e com realização da IATF 15 horas mais tarde (TWAGIRAMUNGU et al., 1995; PURSLEY et al., 1997).

Objetivando-se diminuir a utilização de mão de obra e manejo dos animais, o protocolo *Ovsynch* foi adaptado, com a inseminação coincidindo com o momento da última aplicação do GnRH, sendo denominado de *Cosynch* (GEARY e WHITTIER, 1998).

Tendo em vista a crescente utilização de novas alternativas hormonais para IATF, objetivou-se testar a hCG e o acetato de lecirelina em substituição à gonadorelina, como indutores de ovulação em protocolos *Cosynch* para vacas de corte, e seus efeitos quanto ao comportamento estral, taxa de gestação e custos dos protocolos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Protocolos de IATF livre de progesterona para bovinos

As técnicas de melhoramento genético, aliadas ao aumento da eficiência reprodutiva possibilitam selecionar indivíduos com características zootécnicas de interesse comercial. A inseminação artificial (IA) foi a primeira biotecnologia da reprodução utilizada como objetivo de melhorar os índices reprodutivos e a genética de rebanhos bovinos. Assim a eficiente multiplicação de animais superiores por biotécnicas reprodutivas pode proporcionar maior retorno econômico à atividade pelo aumento da produtividade (BARUSELLI et al., 2004).

O desenvolvimento da IA teve início com melhorias no manejo dos machos e principalmente da manipulação do sêmen incluindo coleta, avaliação, preservação e inseminação. Para realizar inseminação artificial convencional é necessário que ocorra a detecção do estro dos animais. Contudo, as falhas na detecção de estro e o grau de anestro pós-parto do rebanho nacional prejudicam o uso dessa técnica por afetarem negativamente a eficiência reprodutiva (BARUSELLI et al., 2004). Nesse sentido, um estudo foi conduzido para avaliar o momento da ocorrência do estro ao longo do dia em bovinos e verificou-se que 53,8% dos estros começam durante a noite, e que 30,7% começam e terminam durante a noite (PINHEIRO et al., 1998).

Existem ainda, alguns fatores que podem influenciar no comportamento estral e atividades relacionadas ao estro (GALINA et al., 1996), o fator estresse (ambiental e manejo), por exemplo, afeta a amplitude e a frequência dos pulsos de GnRH e de hormônio luteinizante (LH) e provocam atraso no pico pré-ovulatório de LH com o conseqüente decréscimo na expressão do estro e incidência de ovulação normal (DOBSON; SMITH, 2000).

No Brasil, as fêmeas bovinas possuem prevalência de 80% de sangue zebu (*Bos indicus*) e são criadas na sua maioria a pasto, ocorrendo significativos comprometimentos na taxa de detecção de estro e na eficiência dos programas de IA.

Devido a essa dificuldade de detecção de estro muitas pesquisas vêm sendo realizadas ao longo das últimas décadas com o propósito de melhorar a eficiência reprodutiva desses animais através de mecanismos hormonais exógenos, ou seja, utilização de protocolos hormonais para que a ovulação ocorra em um momento pré-determinado e que a inseminação possa ser realizada no melhor momento, sendo denominada de IATF.

Nesse sentido, um dos primeiros protocolos de sincronização de estro utilizado foi a $\text{PGF}_{2\alpha}$, comumente usado em fêmeas bovinas (ODDE, 1990). Futuramente, verificou-se que a utilização apenas de $\text{PGF}_{2\alpha}$ só seria eficaz em fêmeas que não estavam em anestro e que possuíam corpo lúteo responsivo, caso contrário, esse animal não responderia a esse protocolo (CAVALIERE et al., 1997).

Posteriormente, foram criados protocolos mais elaborados, com a utilização de mais de um fármaco para viabilizar a ovulação em um período pré-determinado, como a utilização de GnRH e $\text{PGF}_{2\alpha}$, também conhecido como *Ovsynch*. Esse protocolo consiste na administração de GnRH no dia zero do protocolo seguida de $\text{PGF}_{2\alpha}$ no dia sete e uma segunda aplicação de GnRH, 48 horas após o tratamento com $\text{PGF}_{2\alpha}$, procedendo-se a IATF 15 horas mais tarde do último GnRH. Com a administração de GnRH ocorre uma menor variação de tempo da ovulação (TWAGIRAMUNGU et al., 1995; PURSLEY et al., 1997).

De acordo com a origem, o GnRH pode ser dividido em dois grupos: GnRH natural e análogos de GnRH (sintéticos). Frequentemente, os sintéticos são chamados de superanálogos, com exceção da gonadorelina, a qual é produzida a partir do GnRH natural e, além disso, possuem uma meia vida maior (ZAPLETAL e PAVLIK, 2008).

Os análogos de GnRH na sua maioria, são produzidos pela substituição e/ou remoção dos aminoácidos da molécula natural de GnRH. A substituição da glicina na posição 6 por D-alanina, triptofano ou serina, confere uma maior estabilidade estrutural e metabólica, aumentando a meia-vida e a ação do análogo (MONAHAN et al., 1973).

A Gonadorelina Trata-se de um decapeptídeo extraído do hipotálamo ou por síntese, com estrutura química exatamente a mesma do fator natural liberado pelo hipotálamo, usado na forma de deacetato tetrahidrato liofilizada. Lecirelina, é um hormônio hipotalâmico sintético de ação prolongada, é um superanálogo do GnRH, obtido através da modificação de estruturas da gonadorelina, seu uso é benéfico em protocolos de sincronização já que possui menor custo que outros análogos de GnRH (BARUSELLI et al., 2001).

O acetato de lecirelina tem demonstrado eficiência na sincronização da ovulação de Búfalas (WEISS et al., 2012). Baruselli et al. (2001) compararam a utilização da lecirelina em substituição à buserelina no protocolo *Ovsynch* em búfalas e obteve taxa de concepção de 47 e 50% com buserelina e lecirelina, respectivamente. outros análogos sintéticos do GnRH (BARUSELLI et al., 2001)

Segundo Brüssow et al. (1990) o GnRH e seus análogos agonistas atuam na glândula pituitária estimulando a liberação do LH endógeno, observando, também, que a concentração máxima de LH após a injeção de um análogo de GnRH foi de 2 a 4 horas e que este nível se manteve por 6 a 8 horas. Gooneratne et al. (1989) observaram que a resposta máxima do LH a aplicação de GnRH ocorreu após 90 a 120 minutos. A indução do pico de LH com GnRH endógeno é, consistentemente, mais curta do que em relação ao que ocorre naturalmente.

A administração de GnRH induz a liberação de uma onda de LH, que estimula a luteinização ou ovulação de folículos dominantes (TWAGIRAMUNGU et al., 1992; PURSLEY et al., 1995). O efeito do GnRH depende do estágio do folículo na hora de administração desse fármaco. Pesquisa realizada por Ryan et al. (1998) mostrou que a aplicação de 250ug de GnRH resultou em ovulação, em 20 de 20 vacas, quando existia um folículo dominante, isto foi seguido por aparecimento de uma nova onda folicular em $1,6 \pm 0,3$ dias depois da aplicação do GnRH, porém, não houve efeito da aplicação quando utilizado em fêmeas sem folículos dominantes. Assim, o GnRH pode causar ovulação ou nenhum efeito no desenvolvimento de folículos, dependendo da fase de crescimento da onda no momento da sua aplicação.

Tem sido relatado que a utilização de um agonista de GnRH, seguido por aplicação de $PGF_2\alpha$, 7 dias mais tarde, sincroniza de forma eficaz o estro

(THATCHER et al., 1989; WOLFENSON et al., 1994). No entanto, em animais não cíclicos, quando o GnRH falha na indução da ovulação, isto é, quando administrado durante as fases de não-dominância, não há corpo lúteo (CL) presente para responder à ação da $PGF_{2\alpha}$, 7 dias mais tarde. A resposta do estro para este tratamento pode ser melhor e a IATF pode ser usada se mais uma aplicação de GnRH for feita aproximadamente 48 h após a administração de $PGF_{2\alpha}$, enquanto a inseminação é realizada 15 horas após a última dose de GnRH (SCHMITT et al., 1996).

Segundo Peters e Pursley (2003) se a aplicação do GnRH for realizada no mesmo dia ou dentro de 24 h após a aplicação de $PGF_{2\alpha}$, a fertilidade será reduzida. O melhor momento para essa aplicação foi estudado por Portaluppi e Stevenson (2005) que reportaram melhora nas taxas de prenhez, quando a inseminação coincidiu com a administração de GnRH em 72h (31%), após a aplicação de $PGF_{2\alpha}$, contra 48h (23%). Em contrapartida Sterry et al. (2007) sugerem que as taxas de concepção não foram diferentes quando o *CoSynch 48* (GnRH / inseminação às 48 h pós- $PGF_{2\alpha}$ (29%) foi usado em comparação com *CoSynch 72* (GnRH / inseminação às 72 horas pós- $PGF_{2\alpha}$) (33%).

O Controlled Internal Drog *Releasing* (CIDR) em combinação com GnRH e $PGF_{2\alpha}$ pode proporcionar um protocolo mais eficaz (LAMB et al., 2001) para sincronização de estro e ovulação em bovinos de corte, especialmente em vacas em anestro pós-parto (LARSON et al., 2006).

Modificações para o protocolo *Ovsynch* que incluem o uso de cipionato de estradiol, em substituição à injeção final de GnRH tem sido descrita em novilhas (LOPES et al., 2000) e em vacas leiteiras (PANCARCI et al., 2002); denominado o protocolo *Heatsynch*. Em geral, as taxas de prenhez não diferem entre o *Ovsynch* e o tratamento *Heatsynch*, 37% vs 35% respectivamente (LOPES et al., 2000) e 28% vs 29% respectivamente (PANCARCI et al., 2002). No entanto, é importante notar que as taxas de prenhez utilizando estes tratamentos são baixas, além disso, o cipionato de estradiol é proibido para uso em países da União Européia e em animais cujos produtos são importados para essa região.

Vários estudos foram conduzidos em fêmeas bovinas com a administração da hCG em diferentes momentos do ciclo estral (PRICE et al., 1989; SCHMITT et al.,

1996; MARQUES et al., 2002). Nestes estudos, verificou-se que a hCG desempenha uma atividade semelhante à do LH, promovendo a ovulação do folículo dominante, a formação de um corpo lúteo acessório e o aumento das concentrações plasmáticas de progesterona.

A hCG, por apresentar efeito fisiológico semelhante ao LH, vem sendo utilizada como hormônio indutor de ovulação em bovinos, pois sua utilização promoveria a maturação e ovulação de folículos de forma sincrônica por apresentar meia-vida longa, em torno de 10 horas (RENSIS et al., 2002). Thatcher et al. (1989) observaram que a ovulação do folículo dominante pela ação da hCG foi obtida com êxito entre o 4º e 7º e o 14º e 16º dias do ciclo estral.

Bousfield et al. (1994) relataram que a hCG é secretada pelas células trofoblásticas em mulheres gestantes e tem afinidade aos receptores de LH, sendo responsável pela manutenção do corpo lúteo e pela síntese de progesterona necessária para manter a gestação.

Schmitt (1996), em seu trabalho realizando a comparação dos indutores de ovulação do GnRH e hCG, não obteve boas taxas de gestação, sendo 72% de taxa de prenhez para o grupo com utilização de GnRH e 53% para o tratamento com hCG.

O conhecimento dos fundamentos do controle endócrino do ciclo estral bovino permitiu que estratégias racionais fossem elaboradas para que fins específicos, como a IATF, fossem alcançados. Com a utilização estratégica de fármacos é possível controlar precisamente, individualmente e em conjunto, as fases da onda de crescimento folicular. Tal controle facilita o manejo reprodutivo e aumenta a eficiência de operações pecuárias de produção de leite e carne (BINELLI et al., 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Setor de Bovinocultura de Corte da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no campus de Cruz das Almas-BA, localizada na longitude 12° 40' 12" Sul, e Latitude 39° 6' 7" Oeste, com clima tropical quente e umido (GeoHack). Compreendendo o período de Outubro a Dezembro de 2013.

Foram utilizadas 32 vacas adultas aneloras, solteiras, idade média de $5,0 \pm 2,0$ anos, previamente selecionadas quanto à condição reprodutiva, avaliação clínica, condição corporal de média $2,6 \pm 0,54$ realizada por um único avaliador utilizando-se a metodologia segundo Nicholson e Butterworth (1986) e atividade ovariana, por meio de avaliação ginecológica com ultrassom, marca Pie Medical, modelo Àquila Vet, acoplado a um transdutor linear de 6,0 e 8,0 MHz via transretal.

Os animais foram submetidos a regime semi-intensivo de produção. Durante o dia, os animais tiveram livre acesso à pastagem de *Brachiaria decumbens* e receberam concentrado à base de farelo de milho e soja. Água e suplemento mineral foram fornecidos à vontade.

As vacas foram distribuídas aleatoriamente em três tratamentos (T) e as aplicações hormonais foram realizadas por via intramuscular no membro posterior, sendo: T1 (n=10): formado por vacas recebendo no dia zero do protocolo, 100µg do análogo de GnRH, gonadorelina (Profertil®, Tortuga, Brasil); no dia sete, 150µg de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) e no dia nove, 100µg do análogo de GnRH, gonadorelina (Profertil®, Tortuga, Brasil), T2 (n=11): formado por vacas recebendo no dia zero do protocolo, 25µg do análogo de GnRH, lecirelina (Gestran®, Tecnopec, Brasil); no dia sete, 150µg de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) e 25µg do análogo de GnRH, lecirelina (Gestran®, Tecnopec, Brasil) no dia nove e o T3 (n=11): aplicação de 1000UI de hCG (Vetecor®) no dia zero; no dia sete, 150µg de d-cloprostenol (Prolise®, Tecnopec, Brasil) e 1000UI de hCG (Vetecor®), no dia 9.

Todos os hormônios foram aplicados por via intramuscular e as IATFs foram realizadas no D9 do protocolo, após aplicação hormonal (Figura 1).

Figura 1- Protocolos *Cosynch* utilizados e intervalos das avaliações ultrassonográficas realizadas nos tratamentos experimentais.



Fonte: Próprio autor

O local de aplicação foi cuidadosamente higienizado seguindo os padrões de antissepsia utilizando álcool 70%.

A avaliação do comportamento estral foi iniciada no dia sete do protocolo, os animais foram rufiados e observados de 12 em 12 horas, até o final do estro (quando o animal deixou de aceitar a monta do rufião). Foi avaliada a porcentagem de fêmeas em estro, duração do estro, intervalo entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o início do estro, intervalo entre a aplicação de $\text{PGF}_{2\alpha}$ e o final do estro.

A avaliação da eficiência do protocolo de sincronização de ovulação foi feita por meio da taxa de gestação e prolificidade. O diagnóstico de gestação foi realizado 30 dias após a inseminação artificial por ultrassonografia, com o ultrassom marca Pie Medical, modelo Àquila Vet, acoplado a um transdutor linear de 6,0 e 8,0 MHz via transretal onde foi observado batimento cardíaco para constatar a viabilidade fetal.

Foi avaliado o custo dos protocolos, com base no custo dos hormônios utilizados que pode ser observado na Tabela 1 e na taxa de gestação alcançadas nos tratamentos.

Tabela 1. Valor por hormônio cotado no Recôncavo da Bahia, Brasil em Setembro de 2013.

Hormônio	Gonadorelina (5mL)	Acetato de Lecirelina (2,5mg/100ml)	hCG (5.000UI)	PGF ₂ α (12,5mg/50mL)
Custo R\$	34,90	96,40	94,50	75,00

hCG= Gonadotrofina coriônica humana; PGF₂α= Prostaglandina F₂α; ml=mililitro; mg=miligrama; UI= Unidade Internacional; R\$= Reais.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados foram avaliados quanto à normalidade por meio do teste de Shapiro-Wilk. Nenhuma das variáveis apresentou distribuição normal sendo aplicado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Foi utilizado o programa SPSS versão 21 (1989 – 2012).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença para nenhuma das variáveis analisadas de comportamento estral ($P>0,05$; Tabela 2). Pode-se observar que poucos animais demonstraram sinais de estro, com apenas 20% dos animais no T1, 45% no T2 e 18% no T3.

Tabela 2. Comportamento estral de vacas de corte utilizando diferentes indutores de ovulação em protocolo *cosynch*

Parâmetros	T1	T2	T3	Média
Animais em Estro (%)	20,00	45,00	18,00	27,66
Duração do Estro (h)	13,6±1,1	17,7± 8,9	11,9±0,6	13,76±4,0
Intervalo PGF ₂ α – Início do Estro (h)	41,27±7,8	51,58±16,9	49,94±19,76	45,2±17,31
Intervalo PGF ₂ α – Final do Estro (h)	54,96±8,94	69,35±7,97	61,88±19,1	58,94±17,2

T1 = 100 µg de Gonadorelina no dia 0, 150 µg de PGF₂α no dia 7 e 100 µg de Gonadorelina no dia 9 por via intramuscular, T2 = 25µg de Acetato de Lecirelina, 150 µg de PGF₂α e 25µg de Acetato de Lecirelina no dia 9 por via intramuscular T3 = 1000UI de hCG, 150 µg de PGF₂α e 1000UI de hCG no dia 9 por via intramuscular. $P>0,05$. Não houve diferença entre os tratamentos pelo Teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

A baixa taxa de animais em estro pode ser explicada pelo momento da aplicação de PGF₂α, segundo Kastelic et al., (1994) os melhores resultados de sincronização do estro são obtidos quando a PGF₂α é aplicada no momento que o folículo dominante está na fase de crescimento ou início da fase estática, e quando coincidem com a regressão luteal.

A porcentagem de animais que demonstraram sinais de estro foi abaixo dos valores encontrados por Echterkamp e Thallman (2011), que em seu trabalho fez a comparação da eficiência do protocolo *Cosynch* com o mesmo protocolo com a adição de uma fonte de progesterona, onde 57,8% dos animais do grupo *Cosynch*

apresentaram sinais de estro. Os primeiros sinais de estro coincidem geralmente com o início do pico pré-ovulatório de hormônio luteinizante (LH) e do hormônio foliculo estimulante (FSH) (STEVENSON, 2007).

Nove animais manifestaram estro após o tratamento com $\text{PGF}_2\alpha$. Estes resultados de sincronização foram abaixo dos encontrados em animais de raças europeias (70 a 90%) (ODDE, 1990). O Tratamento 2 foi o único que se mostrou superior aos estudos com vacas da raça Nelore, que mostraram resultados próximos a 40% (PINHEIRO et al., 1998). Esta variabilidade no período de ocorrência do estro após uso da $\text{PGF}_2\alpha$ deve-se às diferenças no crescimento folicular entre as vacas e não no tempo de regressão do corpo lúteo (WILTBANK, 2000).

Pode-se observar que a média geral de $13,76\pm 4,0\text{h}$ para duração do estro, dos 28% de animais que entraram em estro corrobora com os parâmetros fisiológicos descritos por Stevenson (2007) de 12 à 18h de duração de estro para vacas de corte.

Em relação ao intervalo entre a aplicação da $\text{PGF}_2\alpha$ e início do estro, verifica-se na literatura que esse intervalo é bastante variável tanto para zebuínos quanto taurinos. O intervalo encontrado nesse estudo ($45,2\pm 17,31\text{h}$), como pode-se observar na Tabela 2, foi abaixo das 91,6h em animais zebuínos de corte (HARDIN et al., 1980). Tem sido encontrados valores de 53,4h para raça Nelore (VALLE et al., 1994) e 63,5h para raça Indubrasil (VACA et al., 1985). Essas diferenças podem ser devido às diferenças na metodologia utilizada na detecção de estro, quando realizadas em intervalos de doze horas ou de forma ininterrupta, já que os estros iniciados no período noturno seriam identificados somente na observação da manhã, no sistema tradicional de observação.

Conhecer o comportamento do animal em estro e a duração dos intervalos do início ou do final do estro (Tabela 2) à ovulação é essencial para que se possa estimar o melhor momento para IA, considerando que o prazo entre o início do estro e a ovulação ocorre em 28 horas (ALVES et al., 2003). Para as raças européias, Trimberger, em 1948, já sugeriu 12 a 18h antes da ovulação como o momento ideal para se proceder a IA, com o objetivo de alcançar a melhor fertilidade.

O momento do estro e da ovulação em relação ao tratamento hormonal é muito variável, e pode limitar a taxa de fertilidade, principalmente quando a IA é realizada em tempo fixo após a sincronização (WRIGHT e MALMO, 1992). Segundo os autores, a IA deve ser realizada 72 a 80 horas ou 72 a 96 horas após a administração da $PGF_{2\alpha}$. Contudo, é possível que nos zebuínos a variação do momento de ovulação após luteólise induzida por $PGF_{2\alpha}$ seja mais ampla, resultando em baixos índices de fertilidade quando uma única IA for realizada em tempo fixo após a sincronização (CAVALIERI et al., 1997).

Não houve diferença para taxa de gestação ($P>0,05$; Tabela 3). A taxa de gestação em todos os grupos se mostrou baixa, 20,00; 18,00 e 9,00% de prenhez, para o T1, T2 e T3, respectivamente.

Tabela 3. Taxa de gestação e custos dos protocolos *Cosynch* utilizando diferentes indutores de ovulação em vacas de corte

Parâmetros	T1	T2	T3	Geral
TG (%)	20	18	9	15,6
Valor/Animal (R\$)	15,00	12,67	17,88	15,2
Valor/Produto/Tratamento (R\$)	82,50	69,68	178,8	110,3

TG(%)= Taxa de gestação, T1 = 100 µg de Gonadorelina no dia 0, 150 µg de $PGF_{2\alpha}$ no dia 7 e 100 µg de Gonadorelina no dia 9 por via intramuscular, T2 = 25µg de Acetato de Lecirelina, 150 µg de $PGF_{2\alpha}$ e 25µg de Acetato de Lecirelina no dia 9 por via intramuscular T3 = 1000UI de hCG, 150 µg de $PGF_{2\alpha}$ e 1000UI de hCG no dia 9 por via intramuscular. Não houve diferença para taxa de gestação pelo teste de Qui-quadrado a 5% de probabilidade.

As baixas taxas de gestação podem ser explicadas pelo momento da inseminação realizado no mesmo momento da aplicação dos indutores já que o GnRH injetado 24 ou 48 horas após a $PGF_{2\alpha}$ concentra as ovulações entre 24 e 32 horas após o GnRH, o que permite a realização da IA com tempo fixo (IATF) cerca de 20 horas após a segunda dose de GnRH (Pursley et al., 1995, 1997; Wiltbank et al., 1996; Burke et al., 1996).

Observando os dados de porcentagem de animais em estro de 20% para o Tratamento 1 e 20% para taxa de gestação do mesmo grupo, pressupor-se-ia que essa porcentagem representariam os menos animais. Porém, o que se observou é

que essa porcentagem não corresponde aos mesmos animais. Concluindo que animais que não demonstraram sinais de estro ovularam e obtiveram diagnóstico de prenhez positivo. Situação semelhante a encontrada por Geary, et al. (2001b) utilizando vacas, substituindo GnRH por hCG em protocolo *Cosynch*, onde observaram sinais de estros numericamente inferiores à taxa de ovulação.

As taxas de gestação encontradas estão abaixo das encontradas por Echternkamp e Thallman (2011), em seu trabalho realizaram a comparação do protocolo *CoSynch* com a utilização do *CoSynch* juntamente com uma fonte de progesterona em vacas de corte, onde foi encontrada taxa de 44,3% para o protocolo sem a adição da progesterona e de 54,6% quando esta foi adicionada. Assim como em outro trabalho de Geary (2001), mostrando a diferença nas taxas de gestação entre o protocolo *OvSynch* (57%) e o *CoSynch* (58%) onde não encontrou diferenças significativas entre seus tratamentos mas observa-se a diferença entre os valores encontrados no presente trabalho.

Outro fator que pode ter contribuído para baixas taxas de gestação é o momento do ciclo estral em que a vacas estavam quando o GnRH foi administrado. Vasconcelos et al. (1999), em seu experimento notou que os animais que estava entre os dias 1 e 4 do ciclo estral apresentaram baixa taxa de ovulação posterior a indução com GnRH (23%), o que ocorreu devido ao fato destes animais estarem em metaestro. Sabe-se que poucos animais nesta fase do ciclo estral apresentam um folículo com tamanho suficiente para responder ao estímulo ovulatório do GnRH. Entretanto os animais que estavam entre os dias 5 e 9 do ciclo estral apresentaram alta taxa de ovulação (96%), por terem um folículo dominante no momento da aplicação do GnRH, o qual possui alta responsividade ao pico de LH.

Utilizando protocolo *Cosynch*, Geary, et al. (2001b) obtiveram taxa de prenhez, para vacas sincronizadas com GnRH, com ou sem remoção de bezerros e hCG com ou sem remoção de bezerros de 46, 49, 35, e 34%, respectivamente. Valores que se encontram superiores ao do presente trabalho.

De fato, MacMillan et al. (2003) relataram que o uso do GnRH em programas de IATF induziu a ovulação de folículos pequenos e esteve associado à formação de corpos lúteos com capacidade esteroideogênica reduzida. A consequência foi a ocorrência de ciclos estrais de curta duração e a redução na taxa de concepção.

As taxas de prenhez observadas em *Bos taurus taurus* e *Bos taurus indicus* oscilam de 42% a 48% respectivamente em programas de IATF, utilizando-se protocolo *Ovsynch* (FERNANDES et al., 2001; WILLIANS et al., 1996). A baixa resposta ao *Ovsynch* parece estar relacionada à baixa incidência de ovulação do folículo dominante após aplicação do primeiro GnRH, que resulta em baixa taxa de sincronização do estro após a segunda aplicação do GnRH (MARTINEZ et al, 1999).

Outro fator relevante, que pode ter associação com as baixas taxas de gestação encontradas é que segundo Machado et al. (2006) protocolos à base de GnRH e PGF₂α retarda a elevação da concentração circulante de progesterona pós-ovulação, o que é potencialmente prejudicial ao desenvolvimento embrionário e à manutenção da prenhez.

Segundo Vasconcelos (1999) se o protocolo *Cosynch* for iniciado entre o 5º e o 10º dia do ciclo estral, a chance de sucesso será grande. Entretanto, quando o protocolo é utilizado em dia aleatório do ciclo estral a taxa de prenhez pode variar bastante. Por esse motivo diversos grupos de pesquisas desenvolveram vários tipos e variações de protocolos de pré-sincronização para controlar o dia do ciclo estral no início do *Ovsynch* e, assim, garantir uma melhor eficiência de resposta ao tratamento.

Baruselli et al. (2004) concluíram que o protocolo *Ovsynch* pode ser usado com sucesso somente em vacas ciclando, não sendo indicado para *Bos taurus indicus* devido a baixa ciclicidade, principalmente no início da estação de monta em condições extensivas em áreas tropicais e subtropicais.

Os valores dos protocolos, em relação à suas eficiências, denotam inviabilidade dos protocolos. O propósito de obter uma melhor taxa de gestação não foi obtido com a mudança nos indutores de ovulação.

5 CONCLUSÃO

O uso de hCG ou de acetato de lecorelina em substituição à gonadorelina em protocolos *Cosynch* não alterou o comportamento estral e taxa de gestação em vacas de corte.

REFERÊNCIAS

ALVES, N. G. et al. Intervals from the beginning and ending of estrus to ovulation in Gir and Guzera cows after natural or prostaglandin induced luteolysis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, (p.430-437). 2003.

BARUSELLI, P. S. et al. Lecirelin and Buserelin (Gonadotrophin releasing hormone agonists) are equally effective for fixed time insemination in buffalo. **Braz. J. vet. Resvista Animal Scienci**, v. 38, n. 3, p. 142-145, 2001.

BARUSELLI, P.S.; REIS, E.L.; MARQUES, M.O.; NASSER, L.F.; BÓ, G.A. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrus beef cattle in tropical climates. **Animal Reproduction Science**, v. 82-83, (p. 479-486). 2004.

BARUSELLI, P.S. et al. Impacto da iatf na eficiência reprodutiva em bovinos de corte **Biotechnology da reprodução em bovinos (2º simpósio internacional de reprodução animal aplicada)**, 2006.

BINELLI M., IBIAPINA B.T. & BISINOTTO R.S. Bases fisiológicas, farmacológicas e endócrinas dos tratamentos de sincronização do crescimento folicular e da ovulação. **Acta Scientiae Veterinariae**. 34 (Supl 1): (p.1-7). 2006

BOUSFIELD, G.R.; PERRY, W.M.; WARD, D.N. Gonadotropins, chemistry and biosynthesis. In: KNOBIL, E.; NEILL, J.D. **The physiology of reproduction**. 2. ed. cap. 30. New York: Raven Press, 1994.

BURKE, J.M. et al. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. **Journal of animal science**, v.79, p.1385-93, 1996.

BRÜSSOW K.P., RATKY J., KANITZ W. The relationship between the surge of LH induced by exogenous Gn-RH and the duration of ovulation in gilts. **Reproduction in Domestic Animals**. 25: (p.255-260). 1990

CAVALIERI, J.; et al. Synchronization of estrus and ovulation and associated endocrine changes in *Bos indicus* cows. **Theriogenology**, v.47, p 801-814, 1997.

DOBSON, H.; SMITH, R.F.; What is stress, and how does it affect reproduction. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 743-752, 2000.

ECHTERNKAMP, S.E.; THALLMAN, R.M. Factors affecting pregnancy rate to estrous synchronization and fixed-time artificial insemination in beef cattle. **Journal of animal science**, v.89, n.10 (p.3060-3068). 2011.

FERNANDES, P.; et al. Timed artificial insemination in beef cattle using GnRH agonist PgF₂ and estradiol acetate (EB). **Theriogenology**, v.55, n.7, (p.1521-1532). 2001

GALINA, C. S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Reproductive physiology in zebu cattle, characteristics related to estrous expression and performance of bulls utilized in natural mating. In: **Congresso Brasileiro de Reprodução Animal**. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, (p.46-61). 1995.

GALINA, C.S.; ORIHUELA, A.; RUBIO, I. Behavioural trends affect oestrus detection in zebu cattle. **Animal Reproduction Science**, v.42, (p.465-470). 1996

GEARY, T.M., and WHITTIER, J.C.; Effects of time insemination following synchronization of ovulation using the Ovsynch or Co-synch protocol in beef cows. **Animal Science**. 14:217. 1998.

GEARY, T.W. et al. Calf removal improves conception rates to the Ovsynch and CO-Synch protocols. **Journal of animal science**, v.79, n.1, (p.1-4). 2001.

GEARY, T. W.; SALVERSON, R. R.; WHITTIER, J. C. Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. **Journal of animal science**, v. 79, n. 10, p. 2536-2541, 2001 (b).

GOONERATNE, A.D.; KIRKWOOD, R.W.; THACKER P.A. Effects in injection of gonadotropin-releasing hormone on sow fertility. **Jornal of Animal Science**. 69: (p.123-129). 1989.

HARDIN, D.R.; WARNICK, A.C.; FIELDS, M.J. Artificial insemination of subtropical commercial beef cattle following synchronization with cloprostenol (ICI 80996): II Estrous Response. **Theriogenology**, v.14, n.4, (p. 259-268). 1980.

KASTELIC, J.P. Understanding ovarian follicular development in cattle. **Veterinary Medicine**, v.6, (p.64-71). 1994.

LAMB, G.C., et al. Inclusion of an intravaginal progesterone insert plus GnRH and prostaglandin F₂ α for ovulation control in postpartum suckled beef cows. **Journal of Dairy Science**. 79: (p.2253–2259). 2001.

LARSON, J.E. et al. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂ α , and progesterone. **Journal of Dairy Science**. 84: (p.332–342). 2006.

LOPES, F.L., et al. Use of estradiol cypionate for timed insemination. **Journal of Dairy Science**. 83, 214. 2000.

MACHADO, R. et al. Sincronização da ovulação em vacas da raça nelore e seus efeitos na função ovariana. São Carlos: **Embrapa Pecuária Sudeste**, 2006.

MACMILLAN, K.L.; SEGWAGWE, B.V.E.; PINO, C.S. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. **Animal reproduction science**, v.78, n.3, (p.327-344). 2003.

MARQUES, M.O.; et al. Ovarian ultrasonography and plasma progesterone concentration in *Bos taurus* x *Bos indicus* heifers administered different treatments on day 7 of the estrous cycle. **Theriogenology**. 2002.

MARTINEZ, M.F.; et al. Effect of LH or GnRH on dominant follicle of the first follicular wave in heifers. **Animal Reproduction Science**. v.57, (p. 23-33). 1999

MONAHAN, M. W. et al. Synthetic analogs of the hypothalamic luteinizing hormone releasing factor with increased agonist or antagonist properties. *Biochemistry*, v. 12, n. 23, p. 4616-4620, 1973.

NICHOLSON, M.J.; BUTTERWORTH, M.H. A guide to condition scoring of zebu cattle. Addis Ababa: **International Livestock for Africa**, 1986.

NOAKES, D.E., PARKINSON, T.J. & ENGLAND, G.C.W. Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. England (Eds), **Arthur's veterinary reproduction and obstetrics**. (8th ed). London: Saunders. (pp. 3-53). 2001.

ODDE, K.G. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. **Journal of Animal Science**, v. 68, n.3, (p.817-830). 1990

PALHANO, H.B. et al. Efeito da ciclicidade de vacas nelore sobre as taxas de concepção e de prenhez após protocolos de sincronização para inseminação artificial em tempo fixo. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**. 34(1): (p.63-68). 2012

PANCARCI S.M. et al. Use of estradiol cypionate in a pre-synchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**; 85: (p.122-131). 2002.

PETERS, M.W., PURSLEY, J.R. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. **Theriogenology** 60 (p. 1197–1204). 2003

PINHEIRO, O.L.; et al. Estrous behavior and the estrus – to – ovulation interval in Nelore cattle (*Bos indicus*) with natural estrus or estrus induced with prostaglandin F₂α or norgestomet and estradiol valerate. **Theriogenology**, v. 49 (p.667-681). 1998

PORTALUPPI, M.A., STEVENSON, J.S. Pregnancy rates in lactating dairy cows after presynchronization of estrous cycles and variation of the Ovsynch protocol. **Journal of Dairy Science**. 88, (p.914–921). 2005

PRICE, C.A.; WEBB, R. Ovarian response to hCG treatment during the oestrus cycle in heifers. **Journal of Reproduction and Fertility**, v. 86, n. 1 (p. 303-308). 1989

PURSLEY, J.R., WILTBANK, M.C. e MEE, M.C.; Synchronization of ovulation in dairy cattle using PGF and GnRH. **Theriogenology**, 44: (p.915-923). 1995

PURSLEY, J.R.; et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. **Journal of Dairy Science**, v. 80, (p.295-300). 1997.

RANDEL, R.D. Nutrition and postpartum rebreeding in cattle. **Journal of Animal Science**, v.68, n.3, (p. 853-862). 1990.

RENSIS, F. et al. Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. **Theriogenology**, v.58, (p.1675-1687). 2002.

RYAN, M., MIHM, M., ROCHE, J.F. Effect of GnRH given before or after dominance on gonadotrophin response and the fate of that follicle wave in postpartum dairy cows. **J. Reprod. Fertility Abstr. Ser.** (p.21, 28). 1998.

SCHMITT, E.J.P.; et al. A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Animal Science**, v.74, (p. 1915-1929). 1996.

SENGER P.L. Reproductive cyclicity- terminology and basic concepts. Pathways to pregnancy and parturition. (2nd ed.). USA: Current Conceptions, Inc.. (pp. 144-163). 2003.

STEVENSON, J.P. Clinical Reproductive Physiology of the Cow. Youngquist RS, Threlfall WR eds. Current Therapy in Large Animal. **Theriogenology**. 2^a ed. Philadelphia, EUA: W. B. Saunders Company, 2007.

THATCHER, W.W., et al. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. **Theriogenology** 31 (p.149–164). 1989.

TRIMBERGER, G.W. Breeding efficiency in dairy cattle from artificial insemination at various intervals before and after ovulation. Res. Bull., Nebraska Agric. Exp. Stat., n.153 (p.1-26). 1948.

TWAGIRAMUNGU, H.; et al. Synchronization of ovulation follicular waves with a gonadotropin releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v.73 (p.3141-3151). 1995

VACA, L.A. et al. Oestrous cycles, oestrus and ovulation of the zebu in the Mexican tropics. Veterinary record, v.117, n.17 (p.434-437). 1985

VALLE, E.R. do et al. Duração do cio e momento de ovulação em vacas Nelore. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.23, n.5, 1994. WEISS, R.R. et al. Avaliação do Emprego do Protocolo Ovsynch Modificado na taxa de prenhez e Mortalidade fetal los *Bubalus bubalis* .Revista Veterinária e Zootecnia Vol. 19, No. 4, p. 531-538, 2012.

VASCONCELOS, J. L. et al. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrus cycle in lactating dairy cows. **Theriogenology**, v. 52, n.06, p. 1067-1078, 1999.

WILLIAMS, G.L.; et al. Mechanisms regulation suckling mediated anovulation in the cow. **Animal Reproduction Science**, v.42, n.1, (p.289-297). 1996.

WOLFENSON, D., et al. The effect of aGnRHanalogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. **Theriogenology** 42 (p.633–644). 1994.

WRIGHT, P.J.; MALMO, J. Pharmacologic manipulation of fertility. *Vet. Clin. North Am.:* **Food Anim. Pract.**, v.8 (p.57-89). 1992.

WILTBANK, M. C. et al. Mechanisms that prevent and produce double ovulations in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v.83, n.12 (p. 2998-3007). 2000

WILTBANK, M. C. et al. Development of IA and ET programs that do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. In: ANNUAL CONVENTION PORTLAND. P.23-44, 1996.

ZAPLETA L,D.; PAVLIK, A. The effect of lecorelin (GnRH) dosage on the reproductive performance of nulliparous and lactating rabbit does. **Animal reproduction science**, v.104, n.2 (p. 306-315). 2008.